Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 5, Dec- Jan 2019, p. 907-927

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 5، آذر - دی 1397، ص. 927-907

تولید و بهینه‌سازی ویژگی‌های نانوکامپوزیت زیست‌تخریب‌پذیر کیتوزان/ نانوفیبرآلی حاوی اسانس‌های مرزنجوش بخارایی و زنیان و کاربرد آن بر پایداری اکسیداتیو روغن کلزا

عیسی جاهد[1*] - هادی الماسی[2] - محمد علیزاده خالدآباد[3]

تاریخ دریافت: 1396/12/06
تاریخ پذیرش: 1397/04/03

چکیده

در پژوهش حاضر به طراحی و تولید یک بسته بندی فعال آنتی‌اکسیدانی/ ضدمیکروبی بر پایه بیوپلیمر کیتوزان پرداخته شد که در آن از نانوفیبرلیگنوسلولز (LCNF) و نانوفیبرسلولز (CNF) در غلظت 4% به‌عنوان تقویت‌کننده ویژگی‌های بیوپلیمر و همچنین به‌منظور کنترل رهایش ترکیبات اسانس مرزنجوش و زنیان در غلظت 5% (به‌عنوان ماده آنتی‌اکسیدان/ ضدمیکروبی) از ماده بسته‌بندی به داخل ماده غذایی، استفاده شد. نتایج نشان داد افزودن اسانس‌ها به‌صورت ترکیبی تاثیر قابل توجهی بر تغییرات بلورینگی و خواص حرارتی فیلم‌ها نداشت، در حالیکه نانوتقویت‌کننده‌های آلی سبب افزایش خاصیت کریستالی و افزایش مقاومت حرارتی فیلم‌های نانوکامپوزیت گردید. با به‌کار بردن اسانس و نانوتقویت‌کننده‌های CNF و LCNF در ساختار فیلم‌ها، شفافیت و در نتیجه میزان عبور نور از فیلم‌های فعال نسبت به نمونه کنترل کاهش یافت. افزودن اسانس‌ها به‌طور جداگانه و ترکیبی و همچنین نانوتقویت‌کننده‌های آلی در ساختار فیلم‌ها، سبب کاهش معنی‌داری در میزان حلالیت و نفوذپذیری کامپوزیت‌ها نسبت به فیلم خالص کیتوزان گردید. با افزودن حالت ترکیبی دو اسانس با نسبت 50:50، استحکام کششی (UTS) و کرنش تا نقطه شکست (STB) افزایش یافت، در حالیکه نانوفیبرهای آلی منجر به افزایش UTS و کاهش قابل توجهی در مقدار STB نانوکامپوزیت‌ها گردید. همچنین مشخص شد که فیلم‌های فعال حاوی نسبت‌های مختلف اسانس دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی بوده و خاصیت ضدمیکروبی بالایی علیه باکتری‌های *اشریشیاکلی* O157:H و *باسیلوس سرئوس* داشتند که با افزودن CNF و LCNF به‌دلیل نقش کنترل‌کنندگی توسط نانوفیبرها، از این ویژگی‌هاکاسته شد. با بهینه‌سازی عددی نرم افزار، مقدار بهینه برای اسانس های زنیان و مرزنجوش به‌ترتیب 2/29 و 2/71 درصد (مخلوط 5%) در ترکیب با نانوتقویت‌کننده LCNF به‌دست آمد. نتایج پایداری اکسایشی روغن کلزا نشان داد که نانوکامپوزیت بهینه و کامپوزیت فعال آن، به‌طور قابل توجهی قادر بودند تازگی روغن را در طول نگهداری در دمای محیط حفظ کنند و اکسیداسیون روغن را به تاخیر اندازند.

واژه‌های کلیدی: نانوکامپوزیت، زنیان، مرزنجوش، روغن کلزا، نانوفیبرلیگنوسلولز.

مقدمه

در عصر حاضر، آلودگی‌های شیمیایی ناشی از وارد شدن مواد بسته‌بندی سنتزی در طبیعت، از خطرات بزرگی است که زندگی بشر را تهدید می‌کند، به‌طوریکه بیش از نیمی از زباله‌های شهروندان در کشورهای صنعتی را مواد بسته‌بندی تشکیل می‌دهد (بقایی و همکاران، 1391). یک راهکار مناسب برای حل مشکلات زیست محیطی ناشی از تجمع ضایعات پلاستیکی، می‌تواند بهره‌گیری از پلیمرهای زیست تخریب‌پذیر از جمله کیتوزان باشد. کیتوزان، پلی‌ساکاریدی است که از استیل‌زدایی کیتین تهیه می‌شود. این پلیمر کاتیونی، از نظر فراوانی در طبیعت دومین پلی‌ساکارید مهم بعد از سلولز می‌باشد. ثابت شده است که کیتوزان یک ماده غیرسمی، زیست‌تجزیه‌پذیر[4]، زیست سازگار[5] و نیز دارای اثر ضدمیکروبی است (Celebi and Kurt, 2007). کیتوزان در آب نامحلول است و تولید یک فیلم شفاف می‌کند که می تواند به‌عنوان پوشش و فیلم در مواد غذایی استفاده شود (Dashipour *et al*, 2009).

امروزه در راستای حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی در مواد غذایی، تحقیقات زیادی برای جایگزین کردن مواد شیمیایی با ترکیبات طبیعی انجام شده است. استفاده از بسته‌بندی‌های فعال حاوی اسانس‌های روغنی، روش نوینی برای نگهداری مواد غذایی

1، 2 و 3- به‌ترتیب دانش‌آموخته دکترا، استادیار و استاد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.
(*- نویسنده مسئول: Email: Jahed65@gmail.com)
DOI: 10.22067/ifstrj.v14i5.71229

4 Biodegradable
5 Biocompatible

تازه که متحمل کمترین فرایند شده‌اند و حاوی کمترین افزودنی هستند، می‌باشد و در سال‌های اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای برای تولید و اقتصادی کردن آن انجام شده است (Abdollahi *et al*, 2012). استفاده از فیلم‌های خوراکی به‌منظور حمل اسانس‌های گیاهی می‌تواند منجر به کاهش مقدار مورد نیاز اسانس در اثر انکپسوله شدن در شبکه پلیمری شود، لذا منجر به کاهش تاثیر منفی احتمالی اسانس مانند آرومای شدید و تغییرات ارگانولپتیکی (نسبت به حالت افزودن مستقیم اسانس به ماده غذایی) می‌شود (López-Mata *et al*, 2013).

گیاه مرزنجوش با نام علمی ***Origanum vulgare*** از خانواده نعناعیان است که شامل سه زیر گونه ***Vulgare***، ***gracile.*** و ***Viride*** می باشد. واریته ***gracile*** تحت عنوان مرزنجوش بخارایی، بومی ایران به‌خصوص نواحی شمال‌غرب (کردستان و آذربایجان غربی) است. گونه‌های گیاه مرزنجوش حاوی 1/5-1 درصد اسانس روغنی است (Moradi *et al*, 2015). مرزنجوش از مهمترین منابع گیاهی دارای آنتی‌اکسیدان‌های فنلی است و به‌طورکلی بسیاری از مطالعات انجام گرفته فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدقارچی و ضدباکتریایی گونه‌های مرزنجوش را تایید می‌کند که این اثر را به ترکیبات عمده اسانس روغنی این گیاه شامل کارواکرول، تیمول و گاما ترپینن که ساختارهای فنلی مونوترپنوئیدی هستند، نسبت می‌دهند (Kalemba and Kunicka, 2003). زنیان نیز با نام علمی ***Carum copticum*** یک گیاه یکساله از خانواده چتریان است که در کشورهای ایران، هند و مصر با گلهای سفید و کوچک و بذرهای قهوه ای روشن رشد می‌کند. از زنیان به‌صورت خوراکی به‌عنوان ضددرد، ضدآسم، ضدتهوع و خلط‌آور و به‌صورت موضعی در درمان دردهای روماتیسمی استفاده می‌شود (Khajeh *et al*, 2004). بیشترین میزان اسانس گیاه در میوه (بذر) آن وجود دارد و مقدار آن باتوجه به خصوصیات ژنتیکی و محیطی بین 5 -2 درصد متغیر است. Goudarzi و همکاران (2011) در مطالعه خود اثر ضدمیکروبی اسانس زنیان را به روش انتشار دیسک دیفیوژن بر باکتری‌های *سالمونلا تیفی‌موریوم*[1]، *سودوموناس آئروگینوزا*[2]، *اشریشیاکلی و استافیلوکوکوس اورئوس*[3] مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که اسانس این گیاه بر تمام باکتری‌های مورد بررسی موثر بود و بیشترین قطر هاله عدم رشد مربوط به گونه سالمونلا با میزان 23 میلی‌متر بود.

در طی سال‌های اخیر، فیلم‌های فعال آنتی‌اکسیدانی مختلفی حاوی انواع آنتی اکسیدان‌های طبیعی و سنتزی طراحی شده و تأثیر آن‌ها بر روی افزایش پایداری اکسیداتیو محصولات غذایی مختلف به اثبات رسیده است (Almasi *et al*, 2016; Byun *et al*., 2010; Gemili *et al*., 2010; Souza *et al*., 2011). با این وجود، بایستی به این نکته توجه داشت که افزودن ترکیبات فعال ممکن است با تغییر ساختار شیمیایی و کاهش یکپارچگی شبکه پلیمر، ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی مادهٔ بسته بندی را تضعیف نماید. همچنین استفاده از فیلم‌های بیوپلیمری به دلیل حساسیت ذاتی به آب و مقاومت نسبتا کم به‌ویژه در محیطهای مرطوب با محدودیت‌هایی همراه است (Rhim *et al*, 2007). کیتوزان نیز از این ویژگی عمومی مستثنی نبوده و ویژگی آبدوستی و در نتیجه خصوصیات مکانیکی ضعیف آن در محیطهای مرطوب و ناکافی بودن مقاومت حرارتی و سختی، کاربرد تنهای آن را در صنعت بسته‌بندی با مشکل روبرو کرده است (Rhim *et al*, 2007). برای رفع معایب پلیمرها و تقویت خواص آن‌ها راههای گوناگونی پیشنهاد شده است که یکی از آن‌ها استفاده از نانوتقویت‌کننده‌ها[4] و تولید پلیمرهای نانوکامپوزیت[5] می‌باشد (Almasi *et al*, 2014).

نانوفیبر سلولز[6] (CNF) از جمله نانوذراتی است که در طی سال‌های اخیر، تأثیر آن به‌عنوان نانوتقویت‌کننده، در پلیمرهای مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است (Abdul Khalil *et al*., 2012; Cherian *et al*., 2011). مقاومت مکانیکی بالا، نسبت سطح به حجم زیاد، چگالی پایین، سهولت دسترسی، قیمت مناسب و زیست‌تخریب‌پذیری از جمله مهمترین ویژگی‌هایی است که CNF را از سایر نانوتقویت‌کننده‌ها متمایز می‌سازد. در مقایسه با نانوفیبرهای سلولز که از سلولز بسیار خالص تهیه شده است، نانوفیبرهای لیگنوسلولز[7] (LCNF) از لیگنین، همی‌سلولز و سلولز تشکیل شده است و از مواد خام حاوی لیگنین، چوب و مواد غیر چوب تهیه می‌شوند (Solikhin *et al*, 2017). تولید و استفاده از نانوفیبر لیگنوسلولز بسیار جدید است و پژوهش‌های اندکی در این زمینه گزارش شده است از جمله؛ نانو فیبرهای لیگنوسلولز به‌عنوان نانوکامپوزیت با پلی‌پروپیلن (Iwamoto *et al*, 2015) و پلی‌استایرن برای تولید کامپوزیت‌های چوب- پلاستیکی (WPCs) یا کامپوزیت‌های پلاستیکی طبیعی فیبر استفاده شده است (Ballner *et al*., 2016). محققان دیگر نانوفیبریلاسیون لیگنوسلولز را به‌عنوان پیش تیماری قبل از واکنش زنجیره‌ای آنزیمی با هدف تولید بیواتانول به‌کار برده‌اند (Kumagai *et al*., 2016). مزیت این محصول نسبت به نانوفیبر سلولز، روش سنتز مکانیکی، داشتن انرژی تولید کمتر، هزینه تولید کمتر و آلودگی کمتر محیط زیست می باشد.

تاکنون پژوهشی در زمینه تولید نانوکامپوزیت فعال بر پایه کیتوزان حاوی اسانس مرزنجوش یا زنیان صورت نگرفته است.

---

[1] *salmonella typhimurium*
[2] *Pseudomonas aeruginosa*
[3] *Staphylococcus aureus*

[4] Nanoreinforcements
[5] Nanocomposite polymers
[6] Cellulose Nanofiber
[7] Lignocellulose Nanofiber

همچنین در زمینه کاربرد نانوفیبرلیگنوسلولز به‌عنوان تقویت‌کننده خواص فیلم های خوراکی و همچنین کنترل‌کننده رهایش عامل فعال از پلیمرها تاکنون پژوهشی صورت نگرفته است. بنابراین هدف از انجام پژوهش حاضر، تولید فیلم فعال کیتوزان حاوی اسانس مرزنجوش و زنیان به‌صورت جداگانه و ترکیبی و ارزیابی بهبود خواص فیزیکوشیمیایی و حرارتی فیلم‌های فعال تولید شده، با استفاده از نانوفیبرهای آلی به‌عنوان نانوتقویت‌کننده و در نهایت بهینه‌سازی ویژگی‌های نانوکامپوزیت فعال بود.

مواد و روش ها

کیتوزان با وزن مولکولی متوسط (190-310 KD) و درجه استیل‌زدایی 85-75% از شرکت سیگما آلدریچ (آمریکا) خریداری گردید. نانوفیبر سلولز (CNF) و نانوفیبر لیگنوسلولز (LCNF) به‌ترتیب به‌صورت ژل سفید و قهوه‌ای با میزان ماده خشک 2/5% از شرکت نانونوین پلیمر (ایران، ساری) خریداری شد. متوسط قطر CNF، 28 nm، طول 2-3 μm و خلوص بالاتر از 99% بود و متوسط قطر LCNF برابر 55 nm و طول 2-5 μm بود و از خمیر چوب رنگبری نشده با روش مکانیکی تولید می‌شود. برگ گیاه مرزنجوش بخارایی[1] و دانه زنیان[2] جهت استخراج اسانس از گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه تهیه گردید. سایر ترکیبات شامل گلیسرول، کلسیم سولفات و پتاسیم سولفات از شرکت شارلو خریداری گردید. اسید استیک، DPPH، Tween 80 از شرکت مرک آلمان تهیه شدند. روغن کلزای تصفیه بدون آنتی‌اکسیدان و دارای آنتی‌اکسیدان سنتزی TBHQ نیز از کارخانه روغن مایع ماهک (آذربایجان شرقی) تهیه گردید.

استخراج اسانس

برای تولید اسانس روغنی خالص گیاهان مرزنجوش بخارایی و زنیان از دستگاه اسانس‌گیر (کلونجر) استفاده شد. سپس اسانس حاصل در شیشه‌های تاریک در دمای یخچال تا زمان مصرف نگهداری گردید (Khajeh *et al*, 2004).

روش تولید فیلم نانوکامپوزیت فعال

در این پژوهش از روش کاستینگ[3] (قالب‌ریزی) برای تولید فیلم‌های فعال بر پایه بیوپلیمر کیتوزان استفاده گردید. برای این منظور کیتوزان با وزن مولکولی متوسط به‌صورت 2 درصد وزنی/ حجمی در 100 میلی‌لیتر محلول اسید استیک 1% حل شده و به مدت 2 ساعت در دمای 45±1/5 درجه سانتی‌گراد بر روی هات پلیت مغناطیسی با دور 1200 rpm قرار داده شد تا محلول یکنواختی به‌دست آید. سپس 40 درصد وزنی کیتوزان (0/8 گرم) گلیسرول به‌عنوان نرم‌کننده به مخلوط اضافه شد و به مدت 15 دقیقه فرایند همزدن بر هات پلیت ادامه یافت (فیلم شاهد). برای تولید فیلم‌های کامپوزیت فعال، 5% وزنی کیتوزان اسانس روغنی گیاه مرزنجوش بخارایی و زنیان به‌طور جداگانه و یا به‌صورت ترکیبی (بر اساس طرح مورد نظر) به مخلوط اضافه و بلافاصله 0/2% اسانس، امولسیفایر Tween 80 به مجموعه اضافه شد. در ادامه مخلوط به مدت 1/5 ساعت توسط همزن مغناطیسی تا تشکیل یک امولسیون شیری رنگ و یکنواخت همزده شد. سپس مخلوط نهایی درون پلیت‌هایی با قطر 10 سانتی‌متر (33 گرم) پخش شد. پلیت‌ها درون آون با دمای 30±1 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت قرار داده شد تا فیلم‌ها به‌طور کامل خشک گردد.

برای تولید نانوکامپوزیت‌های فعال، ابتدا 4% وزنی کیتوزان ژل نانوفیبر سلولز و یا لیگنوسلولز داخل مقداری آب مقطر پخش شده سپس جهت پخش شدن یکنواخت در فیلم توسط دستگاه اولتراسوند (ROHS Digitals-DSA100-SK2 South Korea) به مدت 30 دقیقه تحت امواج اولتراسونیک با شدت 40 KHz/100W قرار گرفت. قبل از افزودن اسانس روغنی این دیسپرسیون نانوفیبر به مخلوط اضافه شده و پس از 30 دقیقه همزدن اسانس روغنی و امولسیفایر به مجموعه اضافه گردید. پس از 1/5 ساعت همزدن در دمای محیط مخلوط درون پلیت‌ها پخش شده و داخل آون در دمای 30 درجه سانتی‌گراد به مدت 72 ساعت خشک گردید. پس از خشک شدن، آن‌ها را از سطح پلیت‌ها جدا کرده و داخل بسته‌های زیپ‌پک تا زمان انجام آزمایش‌ها در محیط نسبتا تاریک و بدور از تابش مستقیم نور نگهداری شد (Ruiz-Navajas *et al*,. 2013). فیلم‌های تولید شده به‌طور میانگین دارای ضخامتی برابر 120±5 μm بودند که توسط میکرومتردستی (Alton M820-25, Nanjing, Jiangsu, China) با دقت 0/01 میکرون اندازه‌گیری شد.

آزمون پراش اشعه ایکس (XRD)

آنالیز پراش پرتوایکس بر فیلم‌ها بر پایه کیتوزان حاوی مقادیر مختلف اسانس و نانوفیبر به‌منظور تعیین حالت آمورف (بی‌نظم) وکریستالی آن‌ها صورت گرفت. در این آزمون از دستگاه پراش‌سنج X'Pert MPD (Philips Co., Holland) به‌منظور انجام آزمایش‌ها و ثبت داده‌ها استفاده گردید. الگوی پراش پرتوایکس با ولتاژ شتاب‌دهنده 40 KV و شدت جریان 30 Ma با استفاده از تابش MgK انجام پذیرفت. منحنی پراش در محدوده زوایای پراش (2Θ) تا 20 درجه با سرعت 1 درجه بر دقیقه و گام 0/02 حاصل گردید

[1] Origanum vulgare ssp. gracile
[2] Carum copticum (Ajowan)
[3] solvent casting method

(Ballner *et al*, 2016).

آزمون خواص حرارتی

برای بررسی خواص حرارتی، از گرماسنج روبشی افتراقی (DSC) استفاده شد. برای این منظور نمونه‌هایی از فیلم با وزن تقریبی 5 میلی‌گرم با سرعت 10°C/min در گستره دمایی صفر تا 300 درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و مجددا با همان سرعت تا صفر درجه سانتی‌گراد سرد شد. از روی الگوی گرمایی به‌دست آمده دمای انتقال شیشه‌ای (Tg) و دمای ذوب، تعیین گردید (Celebi and Kurt, 2015).

تعیین ویژگی‌های مکانیکی

اندازه‌گیری ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها شامل کرنش تا نقطه پارگی (STB)، استحکام کششی نهایی (UTS) و حداکثر نیرو در نقطه شکست (FB) فیلم‌ها بر اساس روش استاندارد ASTM به شماره D 882-10 (2010) و با استفاده از دستگاه آنالیز بافت (Shimadzu, Kyoto, Japan) انجام گرفت. برای این منظور فیلم‌ها به شکل مستطیلی با ابعاد 2×8 cm^2 برش داده شدند. فاصله بین دو فک دستگاه 50 میلی‌متر و سرعت حرکت فک‌ها روی 40 میلی‌متر بر دقیقه تنظیم گردید (ASTM, 2010).

نفوذپذیری نسبت به بخار آب[1] (WVP)

برای این کار از ویال‌های مخصوصی با قطر 2cm و ارتفاع 4/5 cm استفاده شد. در درپوش این ویال‌ها منفذی به قطر 5 mm قرار داشت که قطعه‌ای از فیلم مورد آزمون در این قسمت قرار می‌گرفت. برای این منظور ابتدا 3 گرم سولفات کلسیم (رطوبت برابر صفر) در داخل ویال‌ها قرار داده شد، سپس قطعه‌ای از فیلم بریده شده و در درپوش ویال قرار گرفت. ویال‌ها با تمام محتویاتش توزین شده و درون دسیکاتوری حاوی محلول اشباع سولفات پتاسیم قرار داده شد. سولفات پتاسیم اشباع در دمای 25 درجه رطوبت نسبی 97% ایجاد می‌کند. دسیکاتور در دمای 25 درجه قرار داده شد سپس به مدت 3 روز وزن ویال‌ها اندازه‌گیری گردید. مقدار بخار آب انتقال یافته از فیلم‌ها از روی افزایش وزن ویال‌ها تعیین شد (Salaberria *et al*, 2015). منحنی افزایش وزن ویال‌ها با گذشت زمان رسم شد و پس از محاسبهٔ رگرسیون خطی، شیب خط حاصل محاسبه گردید. از تقسیم کردن شیب خط مربوط به هر ویال به کل سطح فیلم که در معرض انتقال بخار آب قرار داشت، آهنگ انتقال بخار آب[2] (WVTR) به‌دست آمد.

$$WVP = \frac{WVTR}{P(R_1 - R_2)} \times X \tag{1}$$

X ؛ ضخامت فیلم (mm)، P؛ فشار بخار آب خالص در 25°C (3169 Pa)، R_1؛ رطوبت نسبی در دسیکاتور (97%) و R_2؛ رطوبت نسبی در داخل ویال (0%) می‌باشد.

میزان حلالیت در آب (WS)

نمونه‌های فیلم در ابعاد 3×3 cm^2 برش داده شد و برای رسیدن به وزن خشک اولیه به مدت 3 ساعت در آون 105 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس نمونه‌های فیلم پس از توزین (M_i) داخل 50 میلی‌لیتر آب مقطر غوطه‌ور شدند و ظروف در حالی که به‌صورت مقطعی همزده می‌شدند، در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 24 ساعت قرار گرفتند. سپس نمونه‌های فیلم از داخل آب خارج و به مدت 6 ساعت در آون 105 درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا به وزن ثابت برسند. با توزین دوباره نمونه‌ها وزن خشک نهایی (M_f) به‌دست آمد. درصد حلالیت در آب از رابطه زیر محاسبه گردید (Abdollahi *et al*, 2012).

$$WS(\%) = \frac{(M_i - M_f)}{M_i} \times 100 \tag{2}$$

نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به نور

برای اندازه‌گیری نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به نور از اسپکتروفتومتر استفاده گردید. برای این منظور قطعه‌ای از فیلم به ابعاد 3×4 cm^2 بریده شده و در مقابل منبع نوری دستگاه قرار گرفت و میزان عبور نور UV و مرئی در طول موج 200-800nm و با سرعت 80 nm/min تعیین گردید. میزان کدورت فیلم‌ها نیز از طریق اندازه‌گیری جذب فیلم‌ها در طول موج 600nm و رابطه 3 محاسبه گردید (Gomez-Guillen *et al*, 2007). در این رابطه Abs_{600} میزان جذب نمونه‌های فیلم در طول موج 600nm و x ضخامت فیلم بر حسب میلی‌متر می‌باشد.

$$Opacity = \frac{Abs_{600}}{x} \tag{3}$$

ویژگی ضدمیکربی فیلم‌ها

برای تعیین اثر ضدمیکربی فیلم خوراکی از روش نفوذ ترکیبات ضدمیکروبی فیلم در محیط آگار[3] استفاده شد. در این روش فیلم‌ها به‌صورت صفحه‌های دایره‌ای به قطر 6 میلی‌متر بریده و به محیط کشت آگار مغذی که از قبل با 10^6 cfu/ml میکروارگانیسم از یکی از انواع *اشریشیاکلی* O157:H و یا

[1] Water vapor permeability

[2] Water vapor transmission rate

[3] Film disk agar diffusion assay

باسیلوس سرئوس تلقیح شده بود منتقل شدند. پس از آن پتری دیش‌های حاوی محیط کشت آلوده همراه با فیلم‌های ضدمیکروبی برای مدت 24 ساعت در انکوباتور 37°C نگهداری شدند. برای دانستن میزان ممانعت‌کنندگی فیلم خوراکی از رشد میکروارگانیسم‌ها قطر هاله‌های تشکیل شده با استفاده از کولیس (INSTAR, China) با دقت 0/01 میلی‌متر اندازه‌گیری شد (Genskowsky *et al*, 2016).

فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها

به‌طور خلاصه 25 میلی‌گرم از هر فیلم با 4 میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و به مدت 2 دقیقه همزده شد. سپس 2 میلی‌لیتر از محلول عصاره استخراج شده از فیلم با 0/2 میلی لیتر محلول متانولی 1 میلی‌مولار DPPH مخلوط و به مدت 1 دقیقه توسط ورتکس در دور 3000 دور در دقیقه مخلوط گردید. پس از یک ساعت قرار دادن نمونه‌ها در دمای محیط و مکان تاریک، جذب آن‌ها در طول موج 517 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (T60 UV,USA) اندازه‌گیری شد (Dashipour *et al* 2014). درصد بازدارندگی رادیکال‌های آزاد DPPH توسط فیلم‌های خوراکی تولید شده از رابطه 4 محاسبه گردید.

$$I(\%) = \frac{A_{Control} - A_{Sample}}{A_{Control}} \times 100 \qquad (4)$$

پایداری اکسیداتیو روغن کلزا

درون ویال‌هایی با حجم 10 میلی‌لیتر، مقدار 10 میلی‌لیتر روغن کلزای تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان افزوده شد و سپس قطعه‌ای از فیلم مورد نظر به ابعاد $4cm^2$× 3 بریده شده و درون روغن غوطه‌ور گردید. سپس درب ویال به‌صورت درز بندی سفت گردید و به مدت 2 ماه در جای تاریک و دمای 25°C قرار داده شد. در طول مدت نگهداری هر 15 روز دو عدد از ویال‌ها برداشته شده و پایداری اکسیداتیو روغن درون آن‌ها با اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV) مورد بررسی قرار گرفت. عدد پراکسید نمونه‌های روغن بر اساس اندازه‌گیری میزان ید تولید شده در اثر واکنش با پراکسیدها محاسبه گردید (Almasi *et al*, 2016).

$$PV(meqO_2 / kgoil) = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{m} \qquad (5)$$

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

در پژوهش حاضر، از طرح ترکیبی (Combined) در نرم‌افزار Design expert 7 برای مطالعه اثر نوع نانوفیبر (نانوفیبر سلولز و لیگنوسلولز) در مقدار ثابت 4 % وزنی کیتوزان، غلظت اسانس مرزنجوش بخارایی (5 -صفر%) و زنیان (5-صفر%) بر ویژگی‌های فیلم‌های بیونانوکامپوزیت تولیدی بر پایه کیتوزان و بهینه‌سازی آن‌ها استفاده گردید. در مطالعه اثر نانوکامپوزیت بهینه تولیدی بر پایداری اکسایشی روغن کلزا، از طرح کاملا تصادفی استفاده شد. برای آنالیز داده‌ها و تعیین اثرات فاکتورهای مطالعاتی از آنالیز واریانس و توزیع فیشر در نرم‌افزار SAS 9.1 استفاده گردید. سطح خطای نوع اول در این مطالعه برابر 0/05 در نظر گرفته شد و آزمایشات در سه تکرار اندازه‌گیری شد.

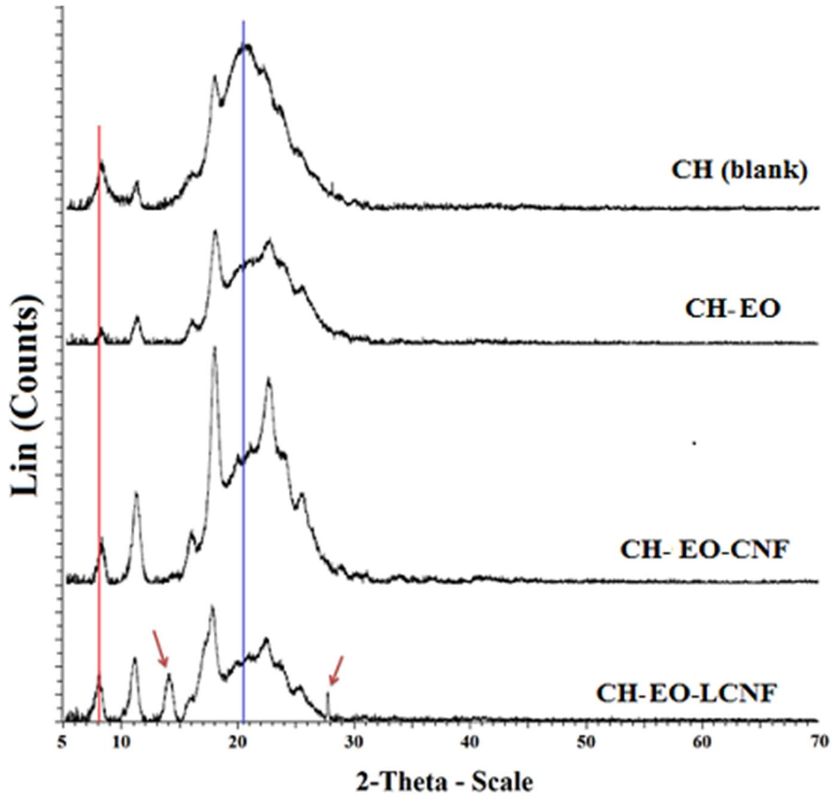
نتایج و بحث

آزمون پراش پرتو ایکس (XRD)

در تمام مواد ویژگی‌های ساختاری کریستالی، یا همان نظم کریستالی، به‌طور کامل در ماده وجود ندارد و مواد به‌صورت ترکیبی از حالت آمورف (بی‌نظم) و کریستالی می‌باشند. حوزه‌های آمورف قله‌های پهن و نواحی کریستالی قله‌های تیز را در نمودار تشکیل می‌دهند. از نسبت شدت این قله‌ها می‌توان برای تعیین بلورینگی استفاده کرد (Ballner *et al*, 2016). ساختار فیلم‌های کامپوزیت و نانوکامپوزیت توسط آزمون XRD مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل 1، آورده شده است. طیف XRD فیلم کیتوزان خالص (CH) نشان داد که کیتوزان در 2Θ=8/73 و 2Θ=21/15 دارای پیک‌های نوک تیزی می‌باشد که حاکی از وجود نواحی کریستالی در ساختار آن می‌باشد، بنابراین فیلم کیتوزان خالص ساختاری نیمه کریستالی داشته و درجه بلورینگی آن پایین می‌باشد. در مورد فیلم کامپوزیتی CH-EO (فیلم کیتوزان حاوی ترکیبی از دو اسانس با نسبت 50:50)، شدت پیک‌ها به آرامی کاهش یافت و حالت کریستالی فیلم خوراکی تولیدی نسبت به نمونه کیتوزان خالص تقلیل پیدا کرد که این موضع تایید می‌کند افزودن اسانس اثر کاهشی بر حالت کریستالی (افزایش حالت آمورف) فیلم خوراکی بر پایه کیتوزان دارد. در واقع می‌توان گفت که با تشکیل پیوندهای جدید بین کیتوزان و اسانس، ساختارهای اصلی کریستالی در کیتوزان تا حدودی تخریب می‌شود به‌طوری‌که پیک‌های نسبتا تیز که نشان از ساختار کریستالی در این نواحی می‌باشد، با افزودن اسانس ارتفاع این پیک‌ها کاهش و تا حدودی عرض آن‌ها بیشتر شده است که البته در پژوهش حاضر این تغییرات چندان چشمگیر نمی‌باشد. با افزودن 4% نانوتقویت‌کننده‌های CNF و یا LCNF به فرمولاسیون فیلم CH-EO شدت این پیک‌ها به تدریج افزایش یافت و در برخی نواحی پیک‌های جدیدی نیز تشکیل شد که حاکی از افزایش خاصیت کریستالی فیلم‌های نانوکامپوزیت CH-EO-CNF و CH-EO-LCNF نسبت به فیلم شاهد و فیلم CH-EO می‌باشد. همانطور که مشاهده می‌شود طیف XRD فیلم CH-EO-CNF نشان‌دهنده وجود نواحی کریستالی در 2Θ=8، 2Θ=11/8 ، 2Θ=18/15 و 2Θ=22/5 می‌باشد و با افزودن LCNF به ساختار کیتوزان شدت پیک‌ها در نواحی 2Θ=8، 2Θ=11/8، 2Θ=14 و 2Θ=18 افزایش یافت و یک

پیک جدید هم در زاویه 2Θ=28 ایجاد گردید (شکل 1) که می‌توان آن را به بلورهای سلولز و لیگنوسلولز نسبت داد.

در مجموع نتایج آنالیز طیف نگاره‌های آزمون XRD نشان داد که به‌کاربردن این نانوفیبرها در ساختار فیلم خوراکی بر پایه کیتوزان سبب افزایش نواحی کریستالی و درجه بلورینگی فیلم‌ها نسبت به کیتوزان خالص گردید و در این بین اثر CNF بیشتر از LCNF بود. دلیل این امر اولا نقش تقویت‌کنندگی این نانوفیبرها در افزایش انسجام و تراکم بین رشته‌های پلیمر و ثانیا تشکیل توده کریستال به‌ویژه در غلظت‌های بالاتر این تقویت‌کننده‌ها باشد. در تحقیقاتی مشابه Jafari و همکاران (2016) نیز گزارش دادند که به‌طور کلی پهنا و ارتفاع پیک‌های نواحی بلورین فیلم کیتوزان با افزایش نانوفیبر سلولز با منشا میکروبی و گیاهی افزایش یافت که نشان‌دهنده تاثیر مثبت نانوفیبرهای سلولز در ایجاد اتصالات بین رشته‌ای و افزایش انسجام بین مولکول‌ها و در نتیجه افزایش درجه بلورینگی فیلم می‌باشد که این افزایش درجه بلورینگی به نوبه خود بر روی سایر خواص فیزیکی فیلم‌های بیونانوکامپوزیت نیز اثرگذار می‌باشد.



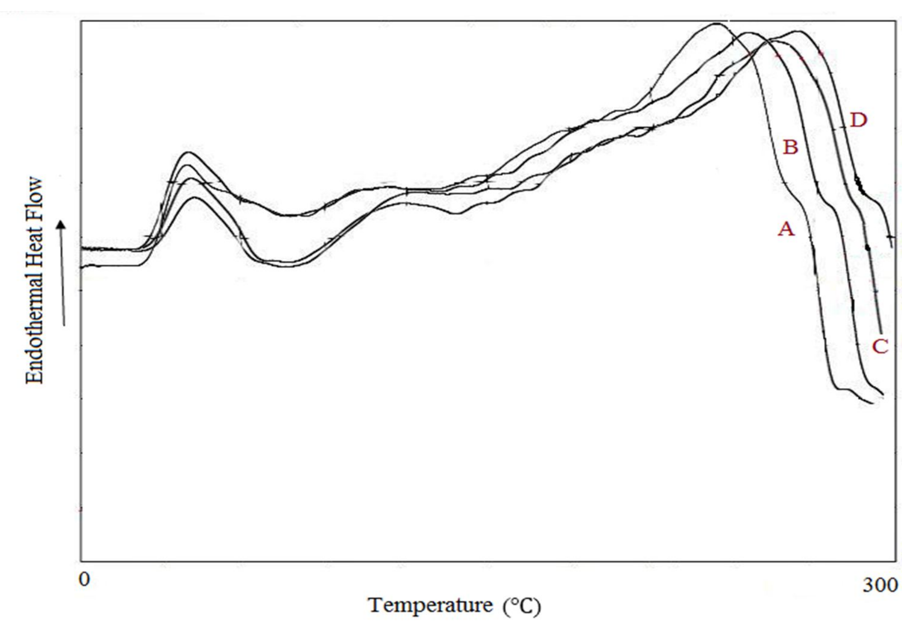
شکل 1- طیف XRD فیلم‌های فعال و نانوکامپوزیت فعال بر پایه کیتوزان.

خواص حرارتی فیلم‌ها

در شکل 2، ترموگرام‌های به‌دست آمده از آنالیز حرارتی فیلم کیتوزان و نانو کامپوزیت‌های آن نشان داده شده است. در این منحنی‌ها 2 پیک گرماگیر (Endothermic) مشاهده می‌شود، اولین پیک ظاهر شده مربوط به Tg و دومین پیک مربوط به Tm می‌باشد. طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که برای فیلم خالص کیتوزان دمای Tg و Tm به‌ترتیب برابر 45/92 و 286/78 درجه سانتی‌گراد بود که با افزودن 5% اسانس دمای Tg تغییری پیدا نکرد ولی دمای Tm حدود 5 درجه افزایش یافت. علت افزایش دمای ذوب فیلم‌ها با افزایش اسانس زنیان احتمالا قرار گیری ترکیبات دارای گروه عاملی اسانس در بین زنجیرهای کیتوزان و برقراری پیوند با آن‌ها بوده است که باعث افزایش نظم و انسجام ساختاری در نواحی آمورف شده است. خواص مکانیکی فیلم‌ها نیز این موضوع را تایید می‌کند، به‌طوری‌که افزودن ترکیب دو اسانس با نسبت 50:50 منجر به افزایش معنی‌داری در میزان UTS فیلم کیتوزان شد. در تحقیقات مختلفی که تاکنون به‌منظور بررسی دمای انتقال شیشه‌ای کیتوزان خالص و کامپوزیت‌های بر پایه آن صورت گرفته است، نتایج بسیار متفاوتی حاصل شده است، زیرا کیتوزان یک بیوپلیمر نیمه بلورین است که از زنجیره‌های بسیار سفت تشکیل شده است و گاها رفتار تغییر فاز متفاوتی را نشان می‌دهد (Beikzadeh *et al*, 2016; Dhawade

and Jagtap, 2012). همچنین لازم به ذکر است که وزن مولکولی کیتوزان، منبع آن، شرایط تولید و همچنین میزان داستیلاسیون زنجیره ها می‌تواند در تعیین دمای انتقال شیشه‌ای و ذوب کیتوزان موثر باشد (Dhawade and Jagtap, 2012).

به‌طور کلی افزودن ترکیبات نانوفیبری به ساختار فیلم کیتوزان منجر به افزایش دمای انتقال شیشه‌ای فیلم‌ها گردید و در این بین تاثیر نانوپرکننده LCNF بیشتر از CNF بود (شکل 2). بطوریکه با افزودن 4% نانوتقویت‌کننده CNF به ساختار فیلم فعال، دمای Tg افزایش اندکی نشان داد ولی دمای ذوب حدود 4/3 درجه سانتی‌گراد کاهش یافت که البته نسبت به فیلم کیتوزان خالص حدود 2 درجه سانتی‌گراد بالاتر بود. این در حالی بود که طبق نتایج به‌دست آمده بالاترین دمای Tg و دمای Tm به نانوکامپوزیت حاوی 4% نانوپرکننده LCNF (CH-CEO-LCNF) تعلق داشت که به‌ترتیب برابر 50/96 و 296/86 درجه سانتی‌گراد به‌دست آمد. افزایش دمای Tm فیلم‌های نانوکامپوزیت در حضور LCNF نشان می‌دهد که نافیبرهای لیگنوسلولز همچنین می‌توانند پایداری حرارتی کیتوزان را افزایش دهند. شباهت ساختاری و حلالیت کیتوزان و لیگنوسلولز باعث ایجاد بیشترین میزان پیوند هیدروژنی بین نانوفیبر و ماتریس پلیمر شده و در نتیجه دمای انتقال شیشه‌ای و دمای ذوب افزایش یافته است. نتایج فوق تاییدی بر نتایج خواص مکانیکی می‌باشد، به‌طوری‌که بیشترین میزان استحکام کششی نیز مربوط به نانوکامپوزیت CH-CEO-LCNF بود. افزایش Tg وجود پیوندهای قوی بین نانوفیبرها به‌ویژه LCNF و زنجیرهای کیتوزان در نواحی آمورف را تایید می‌کند. افزایش Tg به دلیل کاهش تحرک زنجیره‌های کیتوزان قرار گرفته در مجاورت نانوفیبرها است. کاهش تحرک زنجیرها، به احتمال زیاد به علت انسجام و نظم یافتگی موضعی زنجیرها در سطح مشترک آن‌ها با نانوذرات و همچنین کاهش انتروپی پیکربندی بخش‌های قرار گرفته در مجاورت نانوفیبرها می‌باشد. نتایج مشابهی در مورد افزایش Tg بیوپلیمرها در اثر افزودن نانوفیبرهای سلولز توسط Azeredo و همکاران (2010) و Celebia و Kurt (2015) و همچنین افزودن نانوفیبر کیتین به فیلم‌های پلی‌اتیلن اکسید توسط Wu و همکاران (2017) گزارش شده است. در حالیکه دهناد و همکاران (1392) با بررسی ویژگی‌های حرارتی نانوکامپوزیت‌های کیتوزان- نانوسلولز گزارش دادند که با افزایش درصد نانوسلولز، آنتالپی ذوب و نیز دمای انتقال شیشه‌ای روند نزولی نشان داد؛ که علت این عملکرد را به افزایش تحرک زنجیره‌های پلیمری کیتوزان در اثر فعل و انفعال با لایه‌های نانوسلولز نسبت دادند. بنابراین طبق مطالعات انجام شده می‌توان گفت که تاثیر نانوپرکننده‌ها بر خواص حرارتی فیلم‌های خوراکی تا حد زیادی به نوع نانوپرکننده و بیوپلیمر و برهمکنش بین آن‌ها و همچنین حضور ترکیباتی مانند گلیسرول و اسانس‌ها در ساختار فیلم بستگی دارد.

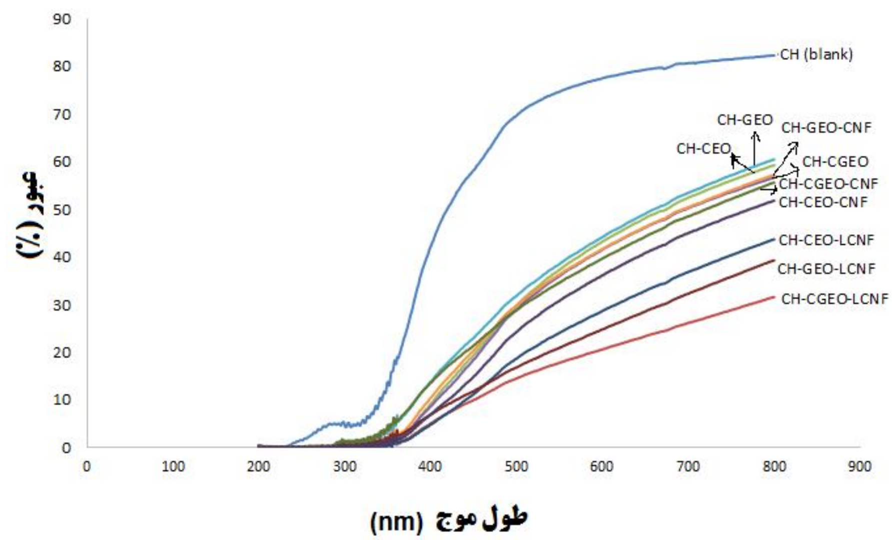


شکل 2- منحنی‌های DSC فیلم خالص کیتوزان (A)، نانوکامپوزیت CH-EO-CNF (B)، فیلم فعال CH-EO (C)، نانوکامپوزیت CH-EO-LCNF (D).

نفوذپذیری فیلم‌ها نسبت به نور

ممانعت در برابر عبور امواج ماوراءبنفش (UV) یا نور مرئی یکی از ویژگی‌های مهم ماده بسته‌بندی می‌باشد که به‌ویژه در مورد مواد غذایی حساس به نور مانند غذاهای پرچرب، می‌تواند به اندازه بازدارندگی نسبت به اکسیژن حائز اهمیت باشد (Gomez-Guillen *et al*, 2007). نتایج عبور نور فیلم‌ها و در نتیجه میزان کدورت آن‌ها، با استفاده از روش اسپکتروسکوپی در محدوده طول موج 200- 800 nm اندازه‌گیری شد که طیف نگاره‌های UV- نور مرئی برای فیلم‌های مختلف کیتوزان در شکل 3 نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود در محدوده 200- 380 nm (نور UV) میزان عبور نور از همه فیلم‌ها قابل چشم‌پوشی است و تقریبا عبور نوری از فیلم‌های فعال بر پایه کیتوزان مشاهده نمی‌شود. در حالیکه با افزایش طول موج و وارد شدن به ناحیه نور مرئی، میزان عبور نور از همه فیلم‌ها افزایش پیدا کرد. بر اساس نتایج به‌دست آمده مشخص شد که بیشترین میزان عبور نور در ناحیه طول موج 400- 800nm به فیلم کیتوزان خالص تعلق داشت و با افزودن 5% اسانس زنیان و مرزنجوش به‌طور جداگانه یا ترکیبی (50:50) میزان عبور نور به‌طور قابل توجهی کاهش یافت (شکل 5). در همین راستا Dashipour و همکاران (2014)، Gomez-Guillen و همکاران (2007) و Abdollahi و همکاران (2012) به‌ترتیب با افزودن اسانس میخک، اسانس برگ گیاه مارتا و اسانس روزماری به فیلم‌های خوراکی حاصل از کیتوزان و ژلاتین ماهی، نتایج مشابهی را گزارش دادند.

افزودن نانوتقویت‌کننده‌های آلی تاثیر مضاعفی بر کاهش عبور نور مرئی از فیلم‌ها داشت، به‌طوری که کمترین میزان عبور نور در بین همه فیلم‌های تولیدی، به بیونانوکامپوزیت‌های فعال حاوی CNF و LCNF تعلق داشت. البته همانطور که طیف نگاره های UV- نور مرئی نشان می‌دهد LCNF تاثیر بیشتری در ممانعت از عبور نور مرئی نسبت به CNF داشت (شکل 3).



شکل 3- طیف نگاره UV-نور مرئی برای فیلم‌های فعال و نانوکامپوزیت فعال بر پایه کیتوزان.

Tung و Liu (2008) و Almasi و همکاران (2014) با بررسی اثر نانوفیبر طبیعی سلولز (CNF) و نانوفیبر سلولز اصلاح شده (MCNF) بر روی خواص بازدارندگی نسبت به نور به‌ترتیب فیلم‌های پلی‌ونیل الکل و PLA نتایج مشابهی را گزارش دادند. دلایل پیشنهادی آن‌ها عبارت بود از: پراکندگی نور توسط CNF بلوری، پراکندگی نور در ناحیه بین سطحی نانوفیبر/ پلیمر و تماس نامطلوب پلیمر و نانوفیبر در ناحیه بین سطحی که باعث ایجاد حفرات و فضاهای خالی ریزی در شبکه پلیمری شده و از این طریق نیز به پراکنده کردن نور کمک می‌کند. همچنین نانوفیبر ذرات و نانوفیبرهایی با اندازه بزرگتر از طول موج نور، قادرند به‌عنوان یک سد در مقابل عبور نور عمل کنند. Fabra و همکاران (2009) نیز بیان کردند که خواص نوری فیلم‌های خوراکی به تغییرات ساختاری فیلم‌ها طی فرایند خشک کردن، رنگ ترکیبات تشکیل‌دهنده فیلم، نوع دیسپرسیون و اندازه ذرات تشکیل‌دهنده آن بستگی دارد.

از ضخامت فیلم‌ها که در محدوده 120±5 µm بود برای محاسبه میزان کدورت فیلم‌ها در طول موج 600 nm طبق رابطه 3 مورد استفاده قرار گرفت. طبق این رابطه میزان کدورت فیلم‌ها رابطه معکوسی با میزان عبور نور از فیلم‌ها دارد، بنابراین فیلم کیتوزان خالص که دارای بیشترین میزان عبور نور بود، کمترین میزان کدورت را در بین فیلم‌های تولیدی داشت (0/93). با افزودن اسانس زنیان و

مرزنجوش به‌طور جداگانه و همچنین ترکیبی به ساختار فیلم، میـزان کدورت فیلم‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که متناسب با کاهش عبور نور از این فیلم‌هـا مـی‌باشـد. در حالیکـه بـا اضـافه کـردن 4% نانوتقویت‌کننده CNF و LCNF به فیلم‌های حاوی اسـانس، میـزان کدورت افزایش قابل توجهی نشان داد و در این بـین تـاثیر LCNF نسـبت بـه CNF بـه مراتـب بیشـتر بـود. نانوفیبرهـا از طریـق برهمکنش‌های قوی با زنجیـره‌هـای کیتـوزان و همچنـین افـزایش خاصیت کریستالی و دانسیته فیلم‌ها، منجر به کاهش عبور نـور و در نتیجه افزایش کدورت فیلم‌های نانوکامپوزیت می‌شود (Ballner *et al*, 2016). بنابراین به‌طور کلی با توجه به نتایج حاصل از میزان عبور نور و کدورت فیلم‌ها، می‌توان گفت که فـیلم‌هـای کیتـوزان حـاوی اسانس و نانوتقویت‌کننده‌های آلی پتانسیل لازم برای تاخیر در سرعت واکنش‌های اکسیداسیون ناشی از امواج نـور UV در مـواد غـذایی را دارد.

بهینه‌سازی فیلم‌های نانوکامپوزیت فعال

در این مرحله به‌منظور انتخاب فیلم بهینه حاوی نسبت مشخصی از اسانس مرزنجوش بخارایی و زنیان در غلظت ثابت 5 % و همچنین یکی از نانوتقویت‌کننده‌های CNF و LCNF در غلظت ثابت 4 %، از طرح ترکیبی Combined با دو متغیر مخلوط (اسانس‌ها) و یک متغیر مستقل (نانوفیبرها) استفاده گردید. بر این اساس پارامترهای فعالیـت آنتی‌اکسیدانی، نفوذپذیری، خواص مکانیکی و ضدمیکروبی بـا مـدل کوادراتیک و حلالیت با مدل کیوبیک برازش شدند که خلاصه نتـایج آنالیز واریانس و ضرایب رگرسیون مدل‌ها در جدول 1، نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شـود در همـه مـدل‌هـا Lack of fit بی‌معنی ($p>0/05$) و رگرسیون‌ها معنی‌دار ($p<0/05$) بودند، همچنین بالا بودن ضرایب تبیین ($R^2>0/85$) و ضریب تبیـین اصـلاح شـده (R^2_{adj}) نشان‌دهنده کفایت مـدل‌هـای ارائـه شـده بـرای هـر پاسـخ می‌باشد.

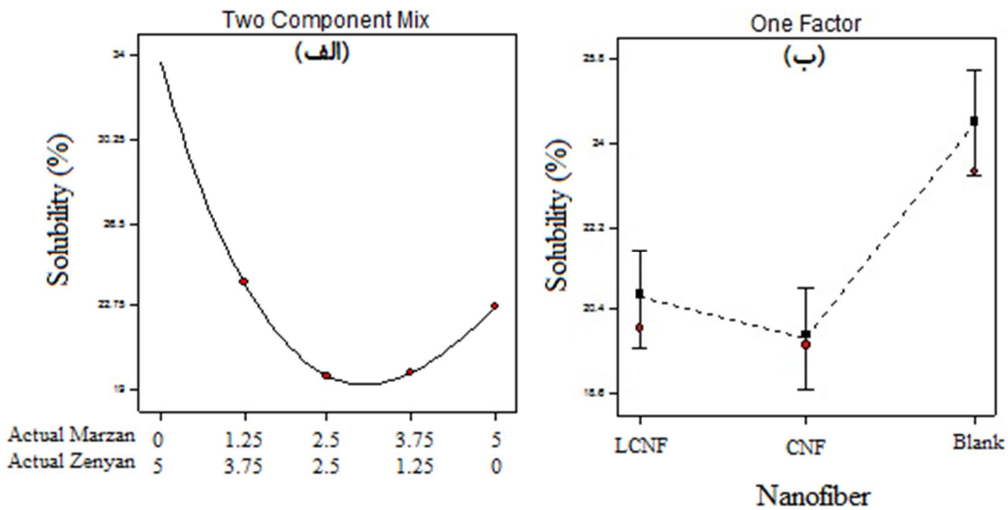
جدول 1- ضرایب رگرسیونی مدل های براورد شده برای پاسخ ها

	خاصیت آنتی اکسیدانی	حلالیت	WVP	UST	STB	FB	هاله عدم رشد (*E.coli*)	هاله عدم رشد (*B.cereus*)
A (مرزنجوش)	24/45	22/95	1/54	29/40	49/23	59/38	9/71	13/40
B (زنیان)	16/27	26/53	1/66	30/87	56/14	61/07	13/63	17/97
AB	39/12	-10/93	0/065	21/40	16/31	6/08	2/66	0/96
AC (C: نوع نانوفیبر)	-4/07	-0/17	-0/33	7/09	3/55	7/12	-1/19	-0/46
$[AC]^2$	-12/05	-0/25	-0/046	1/74	-0/99	3/77	-0/35	0/089
BC	6/83	-3/79	-0/28	10/69	-13/67	9/56	-1/93	-2/53
$[BC]^2$	-28/09	7/15	-0/16	0/92	22/43	6/59	0/24	0/018
ABC	-28/37	11/84	-0/43	-8/34	-21/35	14/32	-0/93	-0/40
$[ABC]^2$	74/02	-23/31	0/16	7/28	-72/15	-12/03	-0/76	-3/08
AB (A-B)	-	15/43	-	-	-	-	-	-
ABC (A-B)	-	-1/77	-	-	-	-	-	-
$[ABC]^2$ (A-B)	-	-7/48	-	-	-	-	-	-
R^2	0/954	0/994	0/916	0/968	0/986	0/857	0/993	0/987
R^2_{adj}	0/907	0/980	0/839	0/935	0/973	0/749	0/988	0/978
Regression								
F ratio	19/68	72/45	11/92	31/63	72/79	7/03	198/36	100/28
Pr>F	<0/0001	<0/0001	0/0003	<0/0001	<0/0001	0/0029	<0/0001	<0/0001
Lack of fit								
F ratio	3/25	1/15	1/00	1/76	3/11	1/11	3/43	2/44
Pr>F	0/114	0/352	0/498	0/275	0/108	0/457	0/106	0/175

حلالیت در آب

حلالیت در آب می‌توانـد یکـی از مهمتـرین ویژگـی‌هـای بـرای فیلم‌های خوراکی به دلیل مقاومت در برابر آب به‌ویژه در محیط‌های مرطوب باشد. در واقع می‌توان گفت که حلالیت فیلم در آب می‌تواند میزان رهایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی از فیلم‌های فعال را هنگام پوشش دادن مواد غذایی تعیـین کنـد (Abdollahi *et al*,

2012). حلالیت فیلم‌ها در آب پس از 24 ساعت غوطه‌وری در آب مقطر اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بالاترین میزان حلالیت مربوط به فیلم کیتوزان خالص با مقدار 25/2 درصد بود. به‌طور کلی افزودن 5 % اسانس زنیان و مرزنجوش به‌صورت ترکیبی و جداگانه باعث کاهش معنی‌داری در میزان حلالیت فیلم‌های فعال گردید و همانطور که در شکل 4؛ الف مشاهده می‌شود در فیلم‌های فعال حاوی 5% اسانس زنیان حلالیت بالاتر بوده است و با افزایش نسبت اسانس مرزنجوش میزان حلالیت کاهش یافته است به‌طوریکه کمترین مقدار آن در حالت تقریبا 50:50 دو اسانس حاصل شد. علت کاهش حلالیت فیلم‌ها با افزودن اسانس، به برهمکنش بین ترکیبات اسانس و گروه‌های آمین، آمیدی و هیدروکسیل زنجیره‌های کیتوزان مربوط است که منجر به افزایش خاصیت آب‌گریزی فیلم‌های کیتوزانی می‌گردد. Dashipour و همکاران (2014) و López- Mata و همکاران (2013) و Ojagh و همکاران (2010) نیز با ترکیب اسانس آویشن، کارواکرول و اسانس میخک در بستر فیلم کیتوزان به نتایج مشابهی دست یافتند. نتایج همچنین نشان داد با افزودن 4% نانوفیبرهای آلی به ماتریس کیتوزان، میزان حلالیت نانوکامپوزیت‌های فعال نسبت به فیلم خالص کیتوزان و فیلم‌های فعال بیشتر کاهش یافت و همانطور که در شکل 4؛ ب مشاهده می‌شود در مجموع اثر CNF بر کاهش حلالیت بیشتر از LCNF بوده است اگرچه این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p>0/05$). افزایش خاصیت کریستالی زنجیره های کیتوزان به دلیل برهمکنش‌های بین مولکولی در اثر حضور نانوفیبرهای آلی و کاهش نفوذ آب به درون زنجیره‌های پلیمری، منجر به کاهش حلالیت فیلم‌های نانوکامپوزیت شده است (Pereda *et al*, 2012).



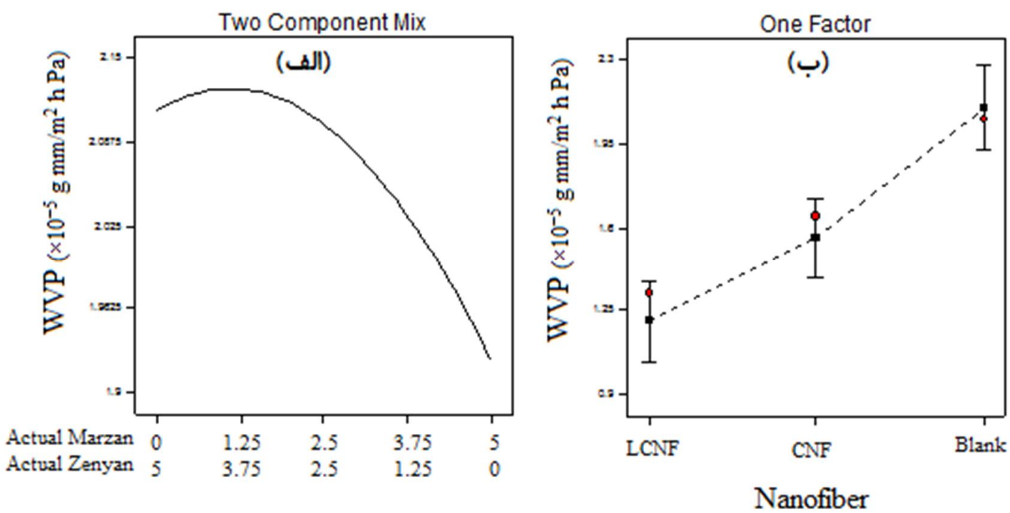
شکل 4- تاثیر الف) نوع و غلظت اسانس و ب) نوع نانوفیبر آلی بر میزان حلالیت فیلم‌های کیتوزان در آب.

نفوذپذیری به بخار آب (WVP)

میزان نفوذپذیری به بخار آب در فیلم‌های خوراکی با نوع کاربرد آن‌ها مرتبط است؛ به‌طوری که نمی‌توان هر نوع غذایی را با یک پلیمر یکسان بسته‌بندی نمود. بنابراین کاربرد بسیاری از فیلم‌های زیست‌تخریب‌پذیر ساخته شده از زیست بسپارها، به دلیل بازدارندگی نسبتاً کم به بخارات آب، محدود است (عرب و همکاران، 1394). طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که میزان WVP برای فیلم کیتوزان خالص برابر $2/63 \times 10^{-5}$ g mm/m² h Pa بود که با افزودن 5% اسانس به‌طور معنی‌داری کاهش یافت و برای فیلم‌های فعال در محدوده $1/92\text{-}2/15 \times 10^{-5}$ g mm/m² h Pa قرار گرفت. شکل 5؛ الف اثر مخلوط اسانس زنیان و مرزنجوش را بر تغییرات WVP فیلم‌ها نشان می‌دهد، همانطور که مشخص است فیلم‌های فعال CH-GEO (فیلم فعال حاوی 5% اسانس مرزنجوش) دارای WVP کمتری نسبت به فیلم‌های فعال CH-CEO بودند اگرچه این اختلاف چندان قابل توجه نمی‌باشد. خاصیت هیدروفیلی فیلم‌های فعال تولیدی به‌دلیل برقراری پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های عاملی ماتریس کیتوزان و گروه‌های هیدروکسیلی گلیسرول و اسانس کاهش پیدا می‌کند. همچنین غیرقطبی بودن خود اسانس نیز می‌تواند به کاهش WVP فیلم‌های حاوی اسانس روغنی کمک کند. Dashipour و همکاران (2014) و López- Mata و همکاران (2013) نیز گزارش دادند که غنی‌سازی فیلم کیتوزان با اسانس کارواکرول و آویشن توانایی کاهش WVP در فیلم‌ها را دارد. همچنین بررسی سایر تحقیقات نشان می‌دهد که نفوذپذیری به بخار آب می‌تواند تحت تأثیر شرایط محیطی مختلف مانند دما و رطوبت

بوده و بسته به نوع پلیمر نیز با افزودن اسانس‌هایی مختلف نتایج مختلفی خواهد داشت.

آنالیز داده‌ها همچنین نشان داد که نانوفیبرهای آلی نیز در غلظت 4 % تاثیر معنی‌داری بر کاهش WVP نسبت به نمونه کنترل و فیلم‌های فعال داشتند، به‌طوریکه کمترین میزان این پارامتر در نانوکامپوزیت CH-CGEO-LCNF با نسبت 3/75% اسانس مرزنجوش و 1/25% اسانس زنیان به‌دست آمد که برابر 0/95 $\times 10^{-5}$ g mm/m² h Pa بود. فاکتورهای مختلفی از جمله نسبت گروه‌های هیدروفیل و هیدروفوب، تخلخل، مسیرهای پیچ و خم (انحناء) و شکاف‌های موجود در ساختار فیلم در میزان نفوذپذیری فیلم‌های خوراکی نسبت به بخار آب موثر هستند (Almasi *et al*, 2014). همانطور که در شکل 5؛ ب مشاهده می‌شود نانوکامپوزیت‌های CH-EO-LCNF دارای WVP کمتری نسبت به نانوکامپوزیت‌های CH-EO-CNF بودند که دلیل آن همانطور که قبلا اشاره شد سازگاری مناسب LCNF با پلیمر کیتوزان نسبت به CNF می‌باشد. همچنین در ساختار LCNF علاوه بر زنجیره‌های سلولز، همی‌سلولز و لیگنین نیز وجود دارد در نتیجه نسبت به CNF خاصیت آب‌دوستی کمتری دارد، بنابراین مجموعه این عوامل می‌تواند بر کاهش بیشتر WVP در نانوکامپوزیت‌های CH-EO-LCNF موثر باشد. کاهش نفوذپذیری به بخار آب در نتیجه افزودن نانوفیبرها به بیوپلیمرهای زیستی توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Jafari *et al*., 2016; Salaberria *et al*, 2015).



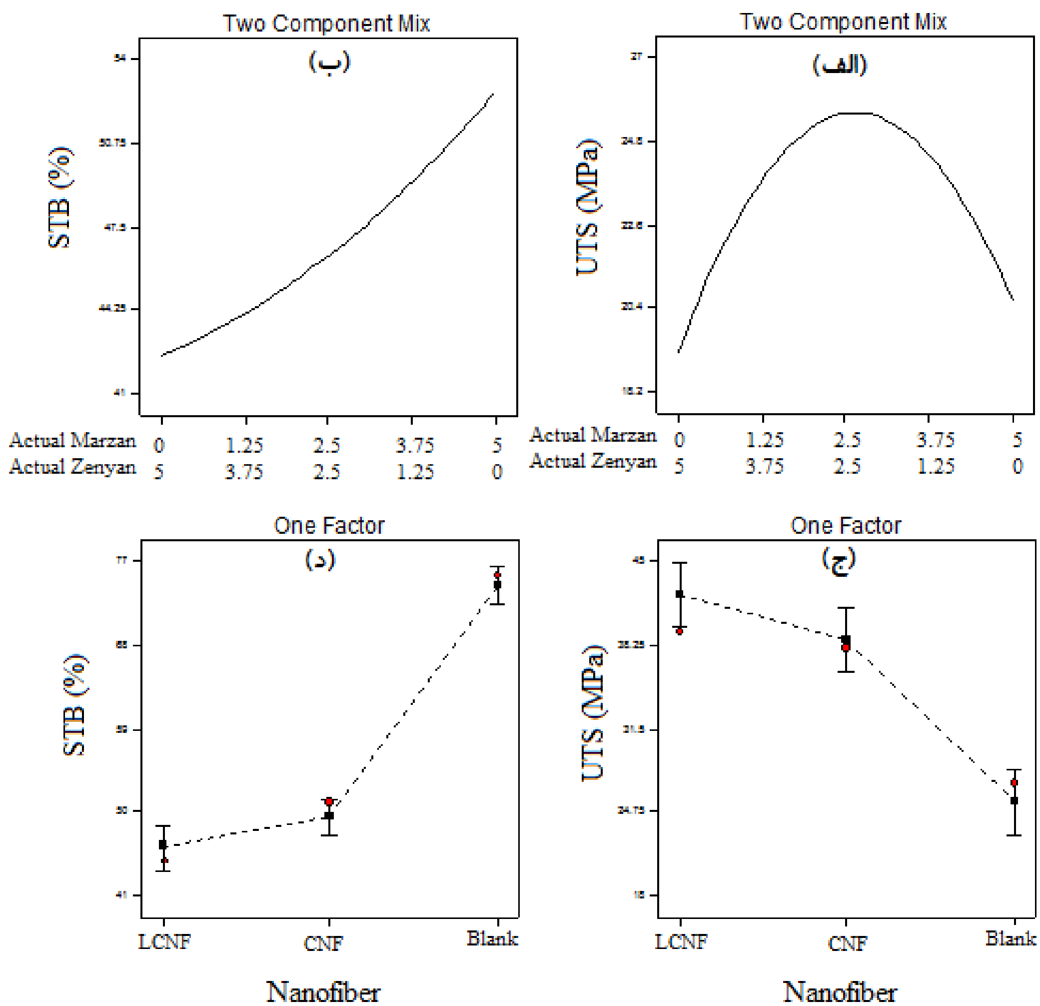
شکل 5- تاثیر الف) نوع و غلظت اسانس و ب) نوع نانوفیبر آلی بر میزان نفوذپذیری فیلم‌های کیتوزان نسبت به بخار آب.

ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌ها

استحکام کششی[1] و کشش‌پذیری[2] از پارامترهای مهم فیلم‌ها هستند که می‌تواند به‌عنوان شاخصی از فیلم برای حفظ یکپارچگی و مقاومت فیلم در برابر استرس‌های محیطی در طی کاربردهای بسته‌بندی به‌کار رود. نتایج نشان داد که میزان استحکام کششی (UTS) و درصد ازدیاد طول در نقطه پارگی (STB) برای فیلم خالص کیتوزان به‌ترتیب برابر 21/56 مگاپاسگال، 52/2 درصد بود. اثر افزودن اسانس‌ها به‌طور جداگانه در غلظت 5% نشان داد که به‌طور کلی اسانس مرزنجوش منجر به کاهش غیرمعنی‌داری در میزان UTS فیلم نسبت به نمونه شاهد گردید، در حالیکه اسانس زنیان منجر به افزایش معنی‌داری در میزان UTS فیلم کیتوزان شد و در فیلم فعال CH-CEO مقدار UTS برابر 25/15 مگاپاسگال به‌دست آمد. همانطور که در شکل 6؛ الف مشاهده می‌شود بیشترین مقدار برای ویژگی UTS زمانی مشاهده شد که حالت 50:50 ترکیب دو اسانس در ساختار فیلم فعال به‌کار برده شده است و با کاهش یا افزایش یکی از اسانس‌های مقدار این پارامتر روند کاهشی داشته است. در مورد ویژگی STB نیز مشاهده شد که افزودن 5 درصد اسانس زنیان منجر به کاهش آن نسبت به نمونه کنترل شد، درحالیکه اسانس مرزنجوش این پارامتر را افزایش داد (شکل 6؛ ب) اگرچه این اختلاف معنی‌دار نبود. بر اساس تحقیقات انجام شده، اسانس‌های مختلف اثرات متفاوتی بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم کیتوزان دارد. به‌عنوان مثال اسانس دارچین سبب بهبود استحکام کششی فیلم‌های کیتوزانی می‌شود ولی میزان کشش پذیری فیلم‌ها را کاهش می‌دهد (Ojagh *et al*, 2010) که مشابه اثر اسانس زنیان در تحقیق حاضر می‌باشد. در حالیکه اسانس آویشن و میخک باعث کاهش استحکام

[1] Ultimate tensile strength
[2] strain to break

کششی فیلم کیتوزان شده ولی STB را افزایش می‌دهند (Hosseini et al, 2009) که تقریبا رفتاری مشابه اسانس مرزنجوش بخارایی مورد استفاده در این پژوهش را داشته است. این میزان تفاوت در رفتار اثر اسانس‌ها بر ویژگی‌های مکانیکی فیلم، به نوع کیتوزان مورد استفاده (وزن مولکولی و حلال)، مقدار اسانس و ترکیبات شیمیایی تشکیل‌دهنده آن و برهمکنش‌های ویژه بین ترکیبات اسانس و زنجیره پلیمر مربوط می‌شود که در واقع تحت تاثیر میزان رطوبت، حضور سورفاکتانت‌ها، دما و غیره نیز قرار می‌گیرد (Abdollahi et al., 2012). .



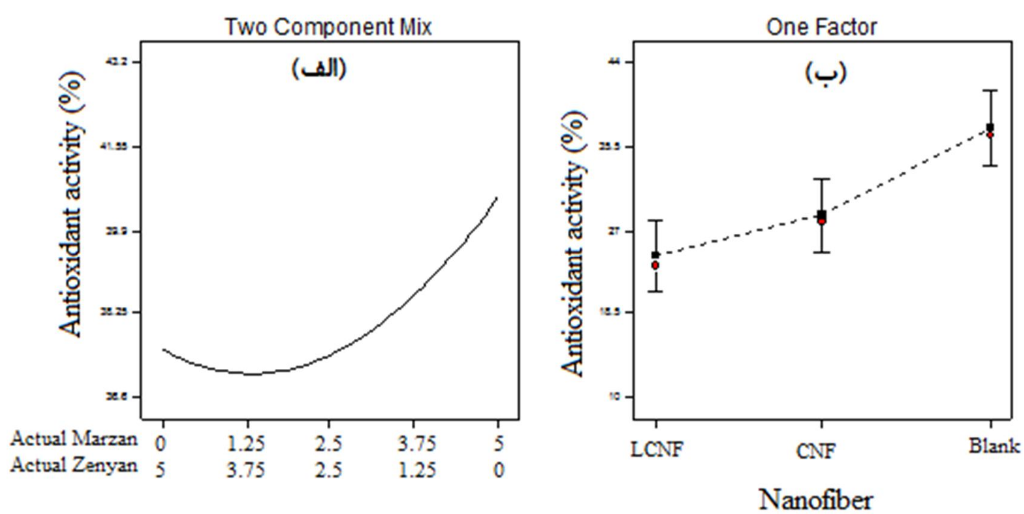
شکل 6- تاثیر نوع اسانس و نانوفیبرهای آلی بر ویژگی های مکانیکی فیلم‌های بر پایه کیتوزان.

نتایج همچنین نشان داد که با افزودن نانوفیبرهای آلی به بستر فیلم کیتوزان، میزان UTS افزایش ولی مقدار STB به‌طور قابل توجهی کاهش یافت که نشان‌دهنده افزایش مقاومت مکانیکی فیلم‌های نانوکامپوزیت نسبت به فیلم‌های فعال و فیلم خالص کیتوزان می‌باشد (شکل 6؛ ج و د). کاهش در مقدار درصد کشش فیلم‌های نانوکامپوزیت ممکن است به دلیل افزایش پیوندهای بین رشته‌ای و در نتیجه محدود شدن تحرک رشته‌های پلیمر کیتوزان باشد. افزایش استحکام کششی نانوکامپوزیت‌ها نیز نشان‌دهنده پخش یکنواخت نانوفیبرها در ماتریس پلیمر و برهمکنش چسبندگی خوب بین نانوفیبر و پلیمر می‌باشد (Jafari et al, 2016). همچنین این بهبود ویژگی‌های مکانیکی را می‌توان با مورفولوژی ذاتی سلولز و لیگنوسلولز، شبکه نانوفیبری آن‌ها و تشابه ساختاری این پلی‌ساکاریدها با پلیمر کیتوزان نیز توجیه نمود. بهبود ویژگی‌های مکانیکی فیلم‌های خوراکی با افزودن نانوفیبرهای آلی توسط سایر

محققان نیز گزارش شده است (Chang *et al*, 2010; Jafari *et al*, 2016; Ballner *et al*., 2016). نتایج همچنین نشان داد که اثر نانوتقویت‌کننده LCNF در بهبود ویژگی‌های مکانیکی نانوکامپوزیت‌ها بیشتر از CNF بود. این رفتار قابل انتظار مربوط به مقاومت ذاتی و نحوه جهت‌گیری زنجیره‌های LCNF می‌باشد. علاوه بر این بالاتر بودن خاصیت هیدروفوب LCNF به دلیل وجود لیگنین و همی‌سلولز نامحلول، تمایل این نانوفیبر را به برهمکنش با پلیمر کیتوزان بیشتر می‌کند، بنابراین بصورت یکنواخت در بستر پلیمر پخش شده و با ایجاد اتصالات عرضی بیشتر، موثرتر از CNF عمل می‌کند (Azerdo *et al*., 2010)

خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها

قرار دادن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی در داخل بسته‌بندی‌های مواد غذایی جهت کنترل اکسیداسیون چربی‌ها و رنگدانه‌های مواد غذایی، منجر به حفظ کیفیت محصولات غذایی می‌گردد. نتایج ظرفیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های کیتوزانی حاوی اسانس زنیان و مرزنجوش بخارایی در ترکیب با نانوتقویت‌کننده CNF یا LCNF در شکل 7 نشان داده شده است. فعالیت مهارکنندگی فیلم کیتوزان خالص برابر 2/85 درصد بود که در مقایسه با سایر پلیمرها این ویژگی برای کیتوزان و برخی فیلم‌های پروتئینی منحصر به فرد می‌باشد. فعالیت مهارکنندگی کیتوزان خالص مربوط به این واقعیت است که رادیکال آزاد می‌تواند با گروه‌های آمین (NH_2) باقیمانده در ساختار کیتوزان واکنش داده و فرم پایدار رادیکال ماکرومولکول را تشکیل دهد، در نتیجه گروه‌های NH_2 از طریق جذب هیدروژن از محلول می‌توانند به فرم آمونیوم (NH_4^+) تبدیل شوند (Ruiz-Navajas *et al*., 2013). با افزودن نسبت‌های مختلف اسانس زنیان و مرزنجوش، فعالیت مهارکنندگی فیلم‌های کیتوزان به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد ($p<0/05$) و بسته به ترکیب دو اسانس و نوع نانوفیبر در محدوده 10/29-43/18 درصد اندازه‌گیری شد که ناشی از ترکیبات عمده تشکیل‌دهنده اسانس‌ها مانند کارواکرول، تیمول، گاما-ترپینن، ام-سیمن و آلفاپینن می‌باشد. همانطور که در شکل 7؛ الف مشاهده می‌شود اثر اسانس مرزنجوش در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها بیشتر از اسانس زنیان بود، به‌طوریکه با افزایش مقدار اسانس مرزنجوش (در مخلوط ثابت 5 درصد اسانس) بر میزان فعالیت مهارکنندگی فیلم‌ها افزوده شد و بیشترین مقدار این پارامتر که برابر 43/18 درصد بود به فیلم CH-GEO تعلق داشت. نتایج اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس‌ها به‌صورت خالص نیز این موضوع را تایید می‌کند به‌طوریکه مقدار IC_{50} برای اسانس مرزنجوش بخارایی و زنیان به‌ترتیب برابر 0/53 μL/ml و 1/21 μL/ml اندازه‌گیری شد. Gómez-Estaca و همکاران (2009) گزارش دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌های خوراکی به نوع و مقدار ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مورد استفاده در ساختار فیلم و طبیعت آنتی‌اکسیدانی ذاتی پلیمر، بستگی دارد.



شکل 7- تاثیر الف) نوع و غلظت اسانس و ب) نوع نانوفیبر آلی بر فعالیت مهارکنندگی رادیکال های آزاد فیلم‌های بر پایه کیتوزان.

نتایج نشان داد که فیلم‌های فعال حاوی نانوتقویت کننده CNF یا LCNF فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نسبت به فیلم‌های فعال فاقد این نانوفیبرها داشتند (شکل 7؛ ب) که حاکی از نقش کنترل‌کنندگی رهایش ترکیبات اسانس توسط نانوفیبرها می‌باشد. در این بین اثر

LCNF در کنترل رهایش اسانس از فیلم‌های نانوکامپوزیت بیشتر از CNF بوده است اگرچه در برخی موارد این اختلاف معنی‌دار نبود، که این امر به دلیل سازگاری و قابلیت پخش بهتر LCNF در ماتریس کیتوزان می‌باشد. نانوفیبرها با مکانیسم‌های مختلفی می‌توانند سرعت انتشار ترکیبات اسانس از نانوکامپوزیت‌ها را تحت تاثیر قرار دهند که از جمله مهمترین آن‌ها می‌توان به این موارد اشاره کرد؛ 1) ایجاد مسیرهای پر پیچ و خم در مسیر حرکت اسانس در ماتریس کیتوزان، که این مورد مهمترین مکانیسم برای رهایش کنترل شده در اثر نانوتقویت‌کننده‌های آلی می‌باشد 2) برهمکنش بین نانوفیبرها و ترکیبات اسانس 3) افزایش خاصیت کریستالی زنجیره مولکولی کیتوزان که منجر به کاهش سیالت مولکولی اسانس می‌شود 4) کاهش تخلخل ماتریس کیتوزان و افزایش انسجام ساختاری فیلم به دلیل پیوندهای عرضی بین نانوفیبرها و شبکه پلیمر (Almasi *et al*., 2014).

اثر ضد میکروبی فیلم‌ها

نتایج فعالیت ضدمیکروبی فیلم فعال کیتوزان و نانوکامپوزیت‌های آن بر باکتری گرم منفی *E.coli O 157: H7* و باکتری گرم مثبت *B.cereus* در جدول 2، نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود فیلم خالص کیتوزان در مقابل هر دو نوع باکتری مورد مطالعه موثر بود و هاله‌ای به قطر 3/74 و 5/08 میلی‌متر به‌ترتیب برای باکتری‌های *E.coli O 157: H7* و *B.cereus* تشکیل گردید. نتایج گزارش‌ها نشان می‌دهد که کیتوزان دارای فعالیت ضدمیکروبی مناسب بوده و با موفقیت به‌عنوان یک ماده بسته‌بندی برای حفظ کیفیت انواع مواد غذایی استفاده شده است. در منابع علمی نظرات متفاوتی در مورد فعالیت ضدمیکروبی فیلم‌های کیتوزانی بیان شده است. برای مثال Wang و همکاران (2011) و Ojagh و همکاران (2010) گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری از نظر قطر هاله عدم رشد برای اثر فیلم کیتوزان خالص بر روی برخی باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت مشاهده نشد. در حالیکه Genskowsky و همکاران (2015) بیان کردند که فیلم‌های کیتوزان خالص فعالیت ضدمیکروبی قابل توجهی بر روی باکتری‌های *Bacillus subtilis*، *E. coli* و *S. aureus* داشت. خاصیت ضدمیکروبی کیتوزان به دلیل بار مثبت گروه‌های آمین است که منجر به آسیب DNA میکروارگانیسم‌ها می‌گردد (Genskowsky *et al*, 2015). نوع کیتوزان و به‌ویژه درجه استیلاسیون آن، وزن مولکولی، ارگانیسم هدف و شرایط محیطی که مورد استفاده قرار می‌گیرد، فعالیت ضدمیکروبی کیتوزان را به‌طور قابل توجهی تحت تاثیر قرار می‌دهد.

اثر ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری‌ها توسط فیلم‌ها، با افزودن 5% اسانس مرزنجوش و زنیان به‌صورت جداگانه و ترکیبی به ماتریس کیتوزان، افزایش قابل توجهی نشان داد که به دلیل انتشار ترکیبات فعال اسانس‌ها از طریق ژل آگار می‌باشد (جدول 2). همانطور که از نتایج نیز می‌توان استنباط کرد در غلظت ثابت، خاصیت ضدمیکروبی اسانس زنیان به‌طور قابل توجهی بیشتر از اسانس مرزنجوش است، در حالیکه بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی این دو اسانس نشان داد که فعالیت مهارکنندگی اسانس مرزنجوش حدود 2/5 برابر اسانس زنیان می‌باشد. به‌طور کلی اسانس‌هایی روغنی دارای ویژگی هیدروفوبیک هستند که آن‌ها را قادر می‌سازد با ساختارهای لیپیدی مانند غشاء سلولی باکتری‌ها، میتوکندری و سایر ترکیبات درون سلولی واکنش دهند و در نتیجه منجر به تجزیه ساختار سلولی، تراوش ترکیبات درون سلول باکتری به خارج آن، تغییر بار یونی سلول، جلوگیری از تنفس سلولی و دگرگونی در نفوذپذیری غشاء سلولی شده و در نهایت منتهی به مرگ سلول باکتری می‌شود (Burt, 2004).

نتایج همچنین نشان داد که با افزودن 4% نانوفیبر آلی CNF یا LCNF به ساختار فیلم، اثر آنتی میکروبی فیلم‌های نانوکامپوزیت به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش یافت (جدول 2). این نتایج نشان می‌دهد که نانوتقویت‌کننده‌ها به‌عنوان عوامل کنترل‌کننده رهایش ترکیبات فعال آنتی میکروبی/ آنتی‌اکسیدانی عمل کرده و در نتیجه مقدار کمتری از این ترکیبات در مدت 24 سات در دمای 37 درجه سانتی‌گراد، از نانوکامپوزیت‌ها به داخل ژل آگار منتشر می‌شوند. همچنین باندهای هیدروژنی تشکیل شده بین گروه‌های کربوکسیل کیتوزان و نانونوفیبرها، منجر به انسجام بیشتر ساختار نانوکامپوزیت‌ها می‌شود، بنابراین مولکول‌های فعال اسانس‌ها بایستی مسیر پر پیچ و خم و طولانی‌تری را در طول فیلم‌های نانوکامپوزیت طی کنند تا وارد ژل آگار گردند که نتیجه آن کاهش نرخ انتشار عوامل آنتی‌میکروبی و کاهش قطر هاله عدم رشد می‌باشد (Alboofetileh *et al*., 2014). بر اساس گزارش Alboofetileh و همکاران (2014)، فاکتورهای مختلفی مانند ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها، نوع باکتری، خصوصیات ماتریس فیلم‌ها، روش و شرایط تولید فیلم‌ها بر ویژگی‌های آنتی‌میکروبی فیلم‌های خوراکی موثر می‌باشد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که *B.cereus* (گرم مثبت) مقاومت کمتری در مقایسه با *E.coli O 157: H7* (گرم منفی) در مقابل اثر ضدباکتریایی فیلم‌های حاوی اسانس داشت، به‌طوریکه برای باکتری گرم مثبت *B. cereus* قطر هاله عدم رشد برای همه فیلم‌ها در محدوده 5/08 الی 20/78 میلی‌متر بدست آمد ولی برای باکتری گرم منفی *E.coli O 157: H7* قطر هاله 3/74 الی 15/38 میلی‌متر بود. این تفاوت می‌تواند به این واقعیت مربوط باشد که باکتری‌های گرم منفی به دلیل دیواره خارجی لیپوساکاریدی که اطراف دیواره پپتید و گلیکانی باکتری را احاطه کرده است مقاومت بیشتری در مقابل عوامل ضدباکتریایی دارد (Burt, 2004).

جدول 2- خواص آنتی‌میکروبی فیلم‌های فعال و نانوکامپوزیت‌های فعال کیتوزان حاوی نسبت های مختلفی از اسانس زنیان و مرزنجوش در ترکیب

با نانوفیبرهای آلی به روش انتشار دیسک

ردیف	اسانس مرزنجوش	اسانس زنیان	نانوفیبر آلی	قطر هاله عدم رشد (mm)	
				E. coli	*B. cereus*
شاهد	0	0	0	3/74	5/08
1	0	5	LCNF	11/68	15/38
2	2/5	2/5	CNF	12/1	15/23
3	3/75	1/25	CNF	10/85	14/16
4	0	5	CNF	13/88	17/97
5	1/25	3/75	CNF	13/08	16/5
6	5	0	CNF	9/26	13/34
7	2/5	2/5	Blank*	14/4	18/78
8	2/5	2/5	LCNF	10/98	14/26
9	5	0	LCNF	8/78	12/89
10	5	0	Blank	11/22	14/08
11	0	5	LCNF	11/75	15/5
12	5	0	LCNF	8/37	12/98
13	1/25	3/75	LCNF	11/03	14/95
14	5	0	Blank	11/29	13/73
15	3/75	1/25	LCNF	9/25	13/75
16	3/75	1/25	Blank	13/05	15/56
17	5	0	CNF	9/45	13/67
18	0	5	Blank	15/38	20/78
19	0	5	Blank	15/26	20/1

* فیلم‌های فعال بدون نانوفیبر

بهینه سازی

شرایط عملیاتی بهینه برای فیلم‌های کیتوزان با استفاده از متغیرهای مستقل اسانس مرزنجوش بخارایی، اسانس زنیان و نوع نانوفیبر آلی بر ویژگی های فیزیکی و مکانیکی فیلم‌های مورد مطالعه با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی[3] نرم‌افزار Design Expert جستجو شد. بدین منظور، در ابتدا اهداف بهینه‌سازی را مشخص کرده و سپس سطوح پاسخ‌ها و متغیرهای مستقل تنظیم شد. نتایج بهینه‌سازی تیمارهای مختلف فیلم کیتوزان با مطلوبیت مرکب[4] برابر 60% در جدول 3 نشان داده شده است. برای فیلم بهینه مقدار فعالیت آنتی‌اکسیدانی، حلالیت و WVP به‌ترتیب برابر 24/29 درصد، 20/83 درصد، $1/32 \times 10^{-5}$ g mm/m² h Pa و میزان ویژگی‌های مکانیکی UST و STB به‌ترتیب برابر 42/06 مگاپاسگال و 53/5 درصد و قطر هاله عدم رشد برای باکتری‌های *E. coli* و *B. cereus* به‌ترتیب 10/41 mm و14/26 mm به‌دست آمد. فیلم نانوکامپوزیت بهینه به‌صورت CH-CGEO-LCNF در بخش پایداری اکسیداتیو روغن نشان داده شده است.

جدول3- نتایج به‌دست آمده از فرآیند بهینه‌سازی فیلم نانوکامپوزیت فعال بر پایه کیتوزان بر اساس ویژگی‌های فیزیکی و مکانیکی

متغیر مستقل	حداقل	حداکثر	مقدار بهینه
اسانس‌مرزنجوش (٪)	0	5	2/71
اسانس زنیان (٪)	0	5	2/29
نانوفیبر آلی	LCNF, CNF, Blank		LCNF
مطلوبیت مرکب	% 60		

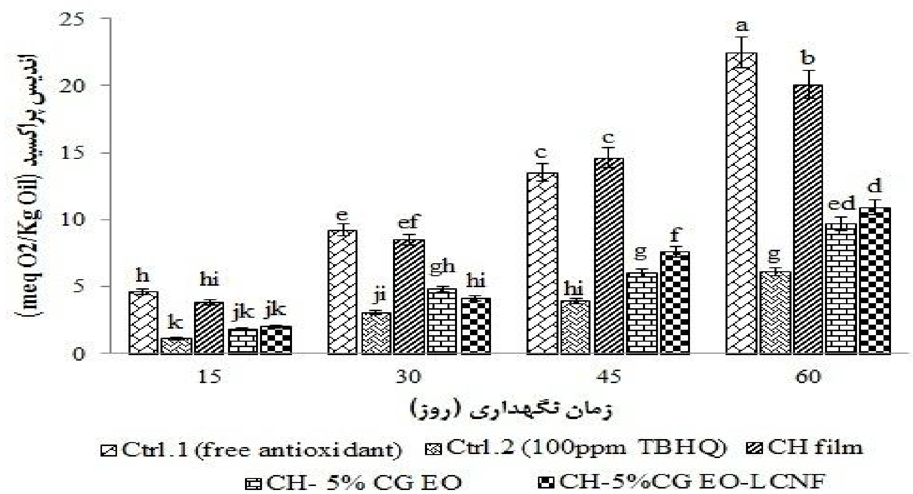
اندازه‌گیری عدد پراکسید (PV) روغن کلزا

یکی از کاربردهایی که برای فیلم‌های حاوی اسانس به تازگی به آن توجه شده، توانایی محافظتی آن‌ها در برابر اکسیداسیون روغن های مایع و چربی ها است. اسانس‌ها در طی زمان این توانایی را دارند که از سطح فیلم به داخل محیط وارد شوند و به این ترتیب در طی زمان با آزاد شدن تدریجی اسانس باعث جلوگیری از واکنش‌های

---
[3] Numerical optimization
[4] Desirability

زنجیره‌ای رادیکال‌های آزاد در داخل روغن مـی‌شـوند (Pires *et al*, 2013). شکل 8 نشانگر استفاده از فیلم‌های فعال آنتی‌اکسیدانی روی عدد پراکسید روغن کلزا طی نگهداری در دمای 25 درجه سانتی‌گراد به مدت 60 روز می‌باشد. نتـایج آنـالیز واریـانس نشـان داد کـه اثـر تیمارهای مختلف بر میزان عـدد پراکسـید روغـن کلـزا طـی زمـان نگهداری معنی‌دار بود (p<0/05). همانطور که مشاهده می‌شود به‌طور کلی عدد پراکسید همه نمونه‌های روغن در طول 2 ماه نگهـداری در دمـای 25 درجـه سـانتی‌گـراد بـه‌طـور معنـی‌داری افـزایش یافـت (p<0/05)، و در این بین بیشترین نرخ افزایش به نمونه روغن فاقـد آنتی‌اکسیدان و سپس نمونه روغن در تماس با فیلم کیتوزان خـالص تعلق داشـت کـه در پایـان دوره نگهـداری بـه‌ترتیـب برابـر 22/5 و 20/1 meq O_2/kg بدست آمد (شـکل 8). میـزان انـدیس پراکسـید نمونه روغن حاوی 100ppm آنتی‌اکسیدان TBHQ در طـول 2 مـاه نگهداری از مقدار اولیه 0/33 به مقدار 6/1 meq O_2/kg رسید که در بین همه تیمارها کمترین مقدار بود. طبق نتایج به‌دست آمده مشخص شد که عدد پراکسید نمونه‌های روغن در تماس با فیلم‌های فعال نیز با افزایش زمان نگهداری افزایش یافت، بدین صورت که بـا افـزایش میزان اسانس مهاجرت کرده به داخل روغن کلزا، شدت اکسیداسیون آن کاهش یافت، به‌طوری‌که با افزایش زمان نگهـداری (روز 60 ام)، به‌دلیل حضور غلظت کافی آنتـی‌اکسـیدان، اخـتلاف بـین روغـن در تماس با فیلم‌های فعال حاوی 5% اسانس و نمونه حـاوی 100ppm آنتی‌اکسیدان TBHQ از نظر میزان عدد پراکسید کاهش یافـت و بـا ادامه این روند در صورت بیشتر بودن زمان نگهداری (6 -5 ماه) این اختلاف غیرمعنی‌دار خواهد بود. بنابراین استفاده از فیلم فعال می‌تواند آنتی اکسیدان را نه در مراحل اولیه نگهـداری بلکـه پـس از گذشـت زمان‌های طولانی‌تر که احتمال فساد اکسیداتیو افزایش پیدا می‌کند، آزاد کرده و در نتیجه ماندگاری روغن را برای مـدت زمـان بیشـتری افزایش دهد.

Atarés و همکاران (2010) در بررسی اثر فیلم کازئینات سـدیم حاوی اسانس‌هایی زنجبیل و دارچین بـر رونـد اکسیداسـیون روغـن افتابگردان مشاهده کردند که نمونه پوشیده شده با این فیلم‌ها نسبت به نمونه بدون پوشش فیلم، به‌طور قابل توجهی توانستند اکسیداسیون را کاهش دهند. تحقیقات سایر محققـان نیـز نشـان داده اسـت کـه فیلم‌های حاوی اسانس و ترکیبات فعال دیگر توانایی خوبی در کاهش روند اکسیداسیون داشـته انـد (Atares *et al*, 2011; Pires *et al*, 2013). نکته قابل توجه دیگر این است که با وجود اختلاف معنـی‌دار در فعالیت آنتی‌اکسیدانی دو نوع روغن در تماس با فیلم فعـال CH-CGEO و نانوکامپوزیت CH-CGEO-LCNF (فیلم بهینه)، تفـاوت معنی‌داری در میزان پراکسید این دو نوع روغـن در طـول نگهـداری مشاهده نمی‌شود، به‌طوریکه مقدار پراکسید بـرای فـیلم فعـال CH-CGEO و CH-CGEO-LCNF پس از 60 روز نگهداری به‌ترتیـب برابر 9/7 و 10/9 meq O_2/kg اندازه‌گیری شـد. بنـابراین مـی‌تـوان اسـتنباط کـرد کـه میـزان کمتـر اسـانس مهـاجرت کـرده از فـیلم نانوکامپوزیت CH-CGEO-LCNF بـرای ممانعـت از اکسیداسـیون روغن در طول 2 ماه نگهداری کافی بوده و غلظت بیشتر اسـانس در افزایش پایداری اکسیداتیو روغن کلزا تاثیری نداشته است.



شکل 8- میزان عدد پراکسید نمونه‌های روغن شاهد (Ctrl.1 روغن کلزای تصفیه شده و بدون آنتی‌اکسیدان، Ctrl.2 روغن کلزای معمولی حاوی TBHQ 100ppm) و نمونه‌های در تماس با فیلم‌های فعال آنتی‌اکسیدانی حاوی اسانس زنیان و مرزنجوش

نتیجه‌گیری

نتایج آزمون XRD و DSC اثبات کردند که بهبودهای حاصـل

شده در خواص فیلم‌ها در درجه اول بوسیله پراکنش یکنواخت نانوفیبرها و سپس از طریق واکنش این نانوتقویت‌کننده‌ها با گروهای هیدروکسیل و آمید زنجیره‌های کیتوزانی و ایجاد اتصلات عرضی مناسب در شبکه پلیمری ایجاد شده است. همچنین تحقیق حاضر نشان داد که افزودن اسانس زنیان و مرزنجوش در ترکیب با نانوفیبرهای CNF و یا LCNF در مقادیر کم به‌طور قابل ملاحظه‌ای موجب بهبود خواص مکانیکی و فیزیکی فیلم‌های کیتوزانی شده و از میزان حساسیت آنها نسبت به رطوبت کاست. با افزودن نسبت‌های مختلف اسانس زنیان و مرزنجوش، فعالیت مهارکنندگی و اثر ممانعت‌کنندگی از رشد باکتری‌های *E.coli O 157: H7* و *B.cereus* فیلم‌های کیتوزان به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد و در این بین اثر اسانس مرزنجوش در افزایش خاصیت آنتی‌اکسیدانی فیلم‌ها بیشتر از اسانس زنیان بود، در حالیکه اثر ضدمیکروبی اسانس زنیان بیشتر بود. با توجه به نتایج این مطالعه به‌نظر می‌رسد نانوکامپوزیت کیتوزان/ نانوفیبرآلی حاوی 5% اسانس زنیان و مرزنجوش پتانسیل فراوانی جهت کاربرد در بسته‌بندی مواد غذایی دارد، که با بررسی نانوکامپوزیت بهینه بر پایداری اکسیداتیو روغن در طول 2 ماه نگهداری در دمای محیط این موضوع مورد تایید قرار گرفت.

منابع

بقایی، ه.، آقایی، ف.، صداقت، ن.، محبی، م.، 1391، بررسی اثر افزودن اسانس سیر بر ویژگی های فیزیکی-مکانیکی، میکروبی و حسی فیلم خوراکی تهیه شده از ایزوله پروتیئن سویا. نشریه پژوهش های علوم و صنایع غذایی ایران، جلد 8، شماره 3؛ 287-279.

دهناد، د.، میرزایی، ح.، امام جمعه، ز.، جعفری، س. م.، داداشی، س، 1392، بررسی ویژگیهای حرارتی و ضدمیکربی نانوکامپوزیت‌های کیتوزان - نانوسلولز و تأثیر آن در افزایش مدت ماندگاری گوشت چرخ‌کرده. مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران، سال هشتم، شماره 4؛ 173-163.

Abdollahi, M., Rezaei, M., Farzi, G., 2012, Improvement of active chitosan film properties with rosemary essential oil for food packaging. *International Journal of Food Science and Technology*, 47, 847-853.

Abdul Khalil, H.P.S., Bhat, A.H., and Ireana Yusra, A.F., 2012, Green composites from sustainable cellulose nanofibrils: A review. *Carbohydrate Polymers*. 87, 963-979.

Alboofetileh, M., Rezaei, M., Hosseini, H., & Abdollahi, M., 2014, Antimicrobialactivity of alginate/clay nanocomposite films enriched with essential oilsagainst three common foodborne pathogens. *Food Control*, 36, 1–7.

Almasi, H., Ghanbarzadeh, B., Dehghannya, J., Entezami, A., & Khosrowshahi Asl, A., 2014, Development of a novel controlled-release nanocomposite based onpoly(lactic acid) to increase the oxidative stability of soybean oil. *Food Additives & Contaminants*: Part A, 31(9), 1586–1597.

Almasi, H., Zandi, M., Beigzadeh, S., Haghju, S., Mehrnow, N., 2016, Chitosan films incorporated with nettle (*Urtica Dioica* L.) extract-loaded nanoliposomes: II. Antioxidant activity and release properties. *Journal of microencapsulation*, 1-11.

ASTM. 2010, Annual book of ASTM standards. Pennsylvania: American Society forTesting and Materials.

Atares, L., De Jesús, C., Talens, P., & Chiralt, A., 2010, Characterization of SPI-based edible films incorporated with cinnamon or ginger essential oils. *Journal of food engineering*, 99, 384-391.

Azeredo, H.M.C., Mattoso, L. H. C., Wood, D., Williams, T. G., Avena-Bustillos, R. J., McHugh T. H. 2010. Nanocellulose Reinforced Chitosan Composite Films as Affected by Nanofiller Loading and Plasticizer Content. *Journal of Food Science*, 75: 1–7.

Ballner, D., Herzele, S., Keckes, J., Edler, M., Griesser, T., Saake, B., 2016, Lignocellulose nanofiber-reinforced polystyrene produced from composite microspheres obtained in suspension polymerization shows superior mechanical performance. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8(21), 13520–13525.

Beikzadeh Ghelejlu, S., Esmaiili, M., Almasi, H., 2016, Characterization of chitosan–nanoclay bionanocomposite active films containing milk thistle extract. *International Journal ofBiological Macromolecules*. 86, 613–621.

Burt, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potentialapplications in foodsda review. *International Journal of Food Microbiology*,94(3), 223–253.

Byun, Y., Kim, Y.T., and Whiteside, S., 2010, Characterization of an antioxidant polylactic acid (PLA) film prepared with α-tocopherol, BHT and polyethylene glycol using film cast extruder. *Journal of Food Engineering*. 100, 239-244.

Celebi, H., Kurt A., 2015, Effects of processing on the properties of chitosan/cellulose nanocrystal films. *Carbohydrate polymers*, 20(133); 284-293.

Chang, P. R., Jian, R., Yu, J., & Ma, X., 2010, Starch-based composites reinforcedwith novel chitin nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 80, 420–425.

Cherian, B. M., Leao, A. L., de Souza, S. F., Costa, L. M. M., de Olyveira, G. M., and Kottaisamy, M., 2011, Cellulose nanocomposites with nanofibres isolated from pineapple leaf fibers for medical applications. *Carbohydrate Polymers*. 86(4), 1790–1798.

Dashipour, A., Khaksar, R., Hosseini, H., Shojaee-Aliabadi, S., Ghanati, K., 2014, Physical, antioxidant and antimicrobial characteristics of carboxymethyl cellulose edible film cooperated with clove essential oil. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*. 16 (8); 34–42.

Dhawade, P. P., Jagtap R. N., 2012, Characterization of the glass transition temperature of chitosan and its oligomers by temperature modulated differential scanning calorimetry. *Advances in Applied Science Research*, 3 (3):1372-1382.

Fabra, M.J., Talens P., Chiralt A., 2009, Microstructure and optical properties of sodium caseinate films containing oleic acid–beeswax mixtures, *Food Hydrocolloids*. 23 (3); 676–683.

Gemili, S., Yemenicioglu, A., and Altınkaya, S.A. 2010, Development of antioxidant food packaging materials with controlled release properties. *Journal of Food Engineering*. 96, 325-332.

Genskowsky, E., Puente, L.A., Perez-Alvarez, Fernandez-Lopez J.A., J., Munoz L.A., Viuda-Martos, M., 2015, Assessment of antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with maqui berry (Aristotelia chilensis). *LWT-Food Science and Technology*, 64;1057-1062.

Gómez-Estaca J., Gimnez B., Montero P., Gómez-Guillén M.C., 2009, Incorporation of antioxidant borage extract into edible films based on sole skin gelatin or a commercial fish gelatin. *Journal of Food Engineering*. 92, 78–85.

Gomez-Guillen, M. C., Ihl, M., Bifani, V., Silva, A., & Montero, P., 2007, Edible filmsmade from tuna-fish gelatin with antioxidant extracts of two different murtaecotypes leaves (*Ugni molinae Turcz*). *Food Hydrocolloids*, 21, 1133–1143.

Goudarzi GR, Saharkhiz MJ, Sattari M, Zomorodian K., 2011, Antibacterial activity and chemical composition of Ajowan (Carum copticum benth. & hook) essential oil. J Med PlantRes;13:203–208.

Hosseini, M., Razavi, S., & Mousavi, M., 2009, Antimicrobial, physical andmechanical properties of chitosan based films incorporated with thyme, cloveand cinnamon essential oils. *Journal of Food Processing and Preservation*, 33,727–743.

Iwamoto, S., & Endo, T., 2015, 3 nm thick lignocellulose nano fibers obtained from esterified wood with maleic anhydride. *ACS Macro Letters*, 4(1), 80–83.

Jafari, H., Pirouzifard, M., Alizadeh Khaledabad, M. A., & Almasi, H., 2016, Effect ofchitin nanofiber on the morphological and physical properties ofchitosan/silver nanoparticle bionanocomposite films. *International Journal ofBiological Macromolecules*, 92, 461–466.

Kalemba D, Kunicka A., 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Curr. Med. Chem; 10: 813 - 29.

Khajeh, M., Yamini, Y., Sefidkon, F., & Bahramifar, N., 2004, Comparison ofessential oil composition of Carum copticum obtained by supercritical carbondioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chemistry*, 86, 587–591.

Kumagai, A., Lee, S.-H., & Endo, T., 2016, Evaluation of the effect of hot-compressed water treatment on enzymatic hydrolysis of lignocellulosic nanofibrils with different lignin content using a quartz crystal microbalance. *Biotechnology and Bioengineering*, 113(7), 1441–1447.

López-Mata, M. A., Ruiz-Cruz, S., & Silva-Beltrán, N. P., 2013, Physicochemical:Antimicrobial and antioxidant properties of chitosan films incorporated with carvacrol. *Molecules*, 18, 13735–13753.

Moradi, M., Hassani, A., Sefidkon F., Maroofi H., 2015, Chemical composition of leaves and flowers essential oil of Origanum vulgare ssp. gracile growing wild in Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18 (1); 242–247.

Ojagh, S. M., Rezaei, M., Razavi, S. H., & Hosseini, S. M. H., 2010, Development andevaluation of a novel biodegradable film made from chitosan and cinnamonessential oil with low affinity toward water. *Food Chemistry*, 122, 161–166.

Pereda M., Amica G., Marcovich N.E., 2012, Development and characterization of edible chitosan/olive oil emulsion films. *Carbohydrate Polymers*, 87 (2),1318–1325.

Pires, C., Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Nunes, M.L.A.M., 2013, Hake proteins edible films incorporated with essential oils: physical, mechanical, antioxidant and antibacterial properties. *Food Hydrocolloids*, 30, 224-31.

Rhim, J., & Ng, P., 2007, Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47(4), 411-433.

Ruiz-Navajas Y., Viuda-Martos M., Sendra E., Perez-Alvarez J.A., 2013, In vitro antibacterial and antioxidant properties of chitosan edible films incorporated with Thymus moroderi or Thymus piperella essential oils. *Food Control*, 30, 386–392.

Salaberria, A. M., Diaz, R. H., Labidi, J., & Fernandes, S. C., 2015, Preparing valuablerenewable nanocomposite films based exclusively on oceanic biomass - chitinnanofillers and chitosan. *Reactive and Functional Polymers*, 89, 31–39.

Solikhin, A., Hadi, Y. S., Massijaya, M. Y., & Nikmatin, S., 2017, Novel isolation of empty fruit bunch lignocellulose nanofibers using different vibration milling times-assisted multimechanical stages. *Waste and Biomass Valorization*, 8 (7); 2451-2462.

Souza, C.O., Silva, L.T., Silva, J.R., Lopez, J.A., Veiga-Santos, P., and Druzian, J. I., 2011, Mango and acerola pulps as antioxidant additives in cassava starch bio-based Film. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59, 2248-2254.

Tang, C., Liu, H., 2008, Cellulose nanofiber reinforced poly(vinyl alcohol) composite film with high visible light

transmittance. Composites Part A: *Applied Science and Manufacturing*, 39 (10);1638-1643.

Wang, L., Liu, F., Jiang, Y., Chai, Z., Li, P., & Cheng, Y., 2011, Synergisticantimicrobial activities of natural essential oils with chitosan films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 12411–12419.

Wu, J., Sun, X., Guo, X., Ge, S., Zhang, Q., 2017, Physicochemical properties, antimicrobial activity and oil release of fish gelatin films incorporated with cinnamon essential oil. *Aquaculture and Fisheries*, 2(4); 185-192.

Iranian Food Science and Technology Research Journal
Vol. 14, No. 5, Dec- Jan 2019, p. 907-927

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
جلد 14، شماره 5، آذر - دی 1397، ص. 927-907

Producing and optimizing the properties of chitosan-organic nanofiber biodegradable nanocomposite based containing *O. vulgare subsp. gracile* and *C. copticum* essential oils and its application on the oxidative stability of Canola oil

E. Jahed*[1], H. Almasi[2], M. Alizadeh khaledabad[3]

Received: 2018.02.25
Accepted: 2018.06.24

Introduction: Due to increasing attention to the environment, as well as consumer demand for healthy, nutritive food products and extended shelf life, in the recent years, the food and packaging industries have paid increasing attention to biodegradable edible packaging prepared from biopolymers such as proteins, polysaccharides, and lipids or their combinations. These biodegradable films may act as carrier of wide variety of additives, such as antimicrobial, antioxidant agents, flavors, colorants and spices which improve the functionality of the packaging materials by addition of novel or extra functions. In the present study, an antioxidant/antimicrobial active packaging based on chitosan biopolymer was designed. For this purpose, lignocellulose nanofibers (LCNF) and cellulose nanofibers (CNF) at concentration of 4% were used as reinforcement of biopolymer properties, as well as to control the release of *Origanum vulgare subsp. gracile* and *Carum copticum* essential oils (as antioxidant/antimicrobial agent) from the packaging material into the foodstuff.

Materials and methods: The *O. vulgare ssp. gracile* leaves and *C. copticum* seeds were obtained from wild plants in mountains of Urmia (Iran). LCNF (average diameter about 55 nm, average length about 2–5 μm, 99% purity) produced from unbleached hardwood pulp through mechanical and acid treatments and CNF (average diameter about 28 nm, average length about 2–3 μm, 99% purity) prepared from softwoods through mechanical disintegration were kindly provided by Nano Novin Polymer Co. (Saari, Iran). Chitosan (medium molecular weight, from shrimp shell with a deacetylation degree of 75–85%), purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Chitosan based bionanocomposite films incorporated with organic nanofillers and essential oils were developed by solvent casting method. The synthesized films were characterized by XRD and DSC analyses. To determine the prepared films would have potential to be used as an active packaging, water vapor permeability, water solubility, color, transparency, mechanical properties, antimicrobial and antioxidant activity of the films were also evaluated. In order to determine the efficiency of activated nanocomposites, the effect of these films was evaluated on the oxidative stability of rapeseed oil without antioxidants and compared with the effect of TBHQ synthetic antioxidant.

Results & Discussion: The results showed that the addition of essential oils did not have a significant effect on the crystallinity and thermal properties of the films, while organic reinforcement increased the crystalline properties and thermal resistance of nanocomposite films. By applying the essential oils and CNF and LCNF in the structure of the films, the apparent transparency and consequently the amount of light passage from them decreased compared to the control sample. With addition of essential oils separately and in combination, as well as CNF and LCNF in the structure of films, solubility and film permeability decreased compared to pure chitosan film. By adding of two essential oils with a ratio of 50:50, tensile strength (UTS) and strain to break (STB) of films were increased, while organic nanofibers led to an increase in UTS and a significant reduction in STB of nanocomposites. It was also found that active films containing different ratios of essential oil had remarkable antioxidant activity and high antimicrobial activity against *E.coli* and *B.cereus* bacteria, which by adding CNF and LCNF these features were reduced due to the role of controlling the release of essential oil compounds by nanofibers. With the numerical optimization of the software, the optimal amount for the essential oils of *C. copticum* and *O. vulgare* oils were 2.29 and 2.71% (5% mix) respectively, in combination with the LCNF nanofibers. The results of oxidative stability of Canola oil showed that nanocomposites containing 5%

5, 2 and 3. Ph.D. Graduate, Assistant Professor and Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.
(* Corresponding author E-mail: Jahed65@gmail.com)

essential oil were considerably able to keep the oil freshness during storage at ambient temperature and delay the oxidation of the oil.

Key words: Nanocomposites, *C. copticum*, *O. vulgare,* Canola oil, Lignocellulose nanofiber.